

**PREVALENCE DE LA CARENCE EN ENZYME
GLUCOSE-6-PHOSPHATE-DESHYDROGENASE (G-6-PD)
DANS LA POPULATION RESIDENTE DE GENEVE**

THESE

présentée à la faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par

Amadou Doudou FALL

du

Sénégal

Thèse No 3657

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène
1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545901_0043

UNIVERSITE DE GENEVE
Département de pédiatrie et génétique

FACULTE DE MEDECINE
Professeur P.E. FERRIER

**PREVALENCE DE LA CARENCE EN ENZYME
GLUCOSE-6-PHOSPHATE-DESHYDROGENASE (G-6-PD)
DANS LA POPULATION RESIDENTE DE GENEVE**

THESE

présentée à la faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par

Amadou Doudou FALL

du

Sénégal

Thèse No 3657

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène
1978

La faculté de médecine, sur le préavis du professeur Pierre E. Ferrier, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 20 février 1978

Le vice-doyen :
André Cruchaud

Thèse No 3657



A "LA GRANDE ROYALE" !

En hommage posthume à feu mon cher oncle Abdoulaye, qui a parachevé mon éducation, dans le cocon d'un fils privilégié, et à qui je dois d'en arriver là !

A tous les membres de ma famille auprès de qui j'ai constamment trouvé appui moral ou matériel, durant cette "longue marche" !

Notre Maître, le professeur Pierre-E. Ferrier, nous a fait l'insigne honneur de diriger ce travail.

Malgré ses innombrables charges universitaires, il a toujours su répondre à nos sollicitations, pendant plusieurs années de recherche. De son enseignement, nous retiendrons entre autres, le goût de l'effort personnel et du travail sérieux, par opposition à l'amateurisme; l'humilité et la disponibilité à l'égard de l'autre.

Nous tenons à lui adresser ici l'hommage de notre profonde reconnaissance, et l'assurance de notre fidélité à son enseignement.

A cet hommage, nous voudrions associer notre ancien Maître commun, le professeur honoraire Fred Bamatter, pionnier et fondateur de l'Ecole genevoise de pédiatrie, et grâce à qui nous avons embrassé cette exaltante spécialité !

La partie clinique de cette étude a été principalement réalisée à la Clinique médicale universitaire que dirige notre Maître, le professeur Alex-F. Muller, qui a toujours accordé un intérêt attentif à nos activités, d'étudiant d'abord, et d'assistant ensuite. Qu'il soit assuré de notre reconnaissance et de notre indéfectible attachement à l'esprit de son enseignement.

L'échelle des normes d'activité de la glucose-6-phosphate-deshydrogenase érythrocytaire a été établie pour Genève, grâce à la précieuse collaboration du Service d'hématologie que dirige le professeur Miescher. Qu'il en soit remercié ainsi que ses collaborateurs.

Le docteur privat-docent Marc Roth, directeur du Laboratoire central universitaire de chimie clinique, a dirigé effectivement tous les travaux de laboratoire et, à travers eux, nous a associé à son enseignement, tant à Genève qu'à Abidjan, dans le cadre de l'O.M.S.

Nous le remercions vivement de son appui décisif, et des précieuses notions de méthodologie et de pédagogie qu'il nous a permis d'approfondir. Qu'à ces remerciements soient associés ses collaborateurs qui nous ont aidé, particulièrement la secrétaire, Madame Zollet, Mademoiselle Lucot et Messieurs Hampaï, Menzi et Lagana.

Que le docteur Parvis Hazeghi, directeur du Service de santé de la jeunesse de Genève nous pardonne de heurter sa modestie légendaire, en dévoilant ici les sentiments de reconnaissance que nous lui gardons, d'avoir pris une part effective à cette étude, dont la partie la plus importante des récoltes d'échantillons provient de son service, avec l'accord et l'autorisation des parents. Merci aussi à toutes les infirmières du Service ayant participé à l'effort.

Le docteur M. Fall, professeur agrégé de pédiatrie à Dakar, a pu mener à bien, dans des conditions matérielles dérisoires, la difficile tâche de prélever et d'expédier, dans les meilleurs délais, tous les échantillons de Dakar. Nous savons ce que cet admirable dévouement lui a coûté d'efforts physiques et même financiers ! Qu'il soit notre porte-parole pour remercier son ami et collaborateur, le docteur Fadel Diédou, de tout l'appui qu'il nous a apporté dans son Service de gynécologie.

Nous devons l'exécution des tableaux et figures au Service d'illustration et de documentation médicales de l'Hôpital. Nous en remercions le chef, Monsieur Ryser et son collaborateur Monsieur Kessi.

Nous tenons enfin à adresser nos remerciements à Mademoiselle Christin et son équipe de la Salle d'accouchement et à Mademoiselle Haag et son équipe du Service des admissions de pédiatrie, pour leur collaboration technique.

Cette liste paraîtra certes longue, mais elle est à la mesure du chemin parcouru et de l'étendue des investigations !

“Tout est dit, et l’on vient trop tard, depuis plus de sept mille ans, qu’il y a des hommes, et qui pensent”.

Plutôt que de souscrire à la sentence pessimiste de Monsieur La Bruyère, écoutons Hugo des Châtiments nous enseigner que

“Ceux qui vivent, ce sont ceux qui luttent, ce sont
Ceux dont un dessein ferme emplit l’âme et le front,
Ceux qui, d’un haut destin gravissent l’âpre cime,
Ceux qui marchent, pensifs, épris d’un but sublime,
Ayant devant les yeux, sans cesse, nuit et jour, ou
Quelque saint labeur, ou quelque grand amour...”

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION	1
Avant Propos	1
Généralités	2
Historique	5
II. MATERIEL ET METHODE	7
A) Principe	7
B) Echantillonnage	8
C) Matériel	8
D) Technique opérationnelle	10
III. RESULTATS	12
1) Normes pour Genève	
2) Contrôle de qualité	12
3) Evaluation de la prévalence	13
4) "Cas à hauts risques"	13
IV. DISCUSSION	18
A) Critique de la méthode	18
B) Commentaire sur l'étude prospective de la prévalence (tableau III)	21
C) Commentaire des "cas à hauts risques" (tableau IV)	21
D) Considérations biochimiques	23
E) Aspect génétique	26
F) Epidémiologie	27
G) Pharmacogénétique	31
H) Problèmes de santé publique	32
V. CONCLUSION	35
VI. RESUME	36
VII. BIBLIOGRAPHIE	38

INTRODUCTION

Avant - Propos

Il n'est pas rare en médecine que la description clinique d'une affection précède de plusieurs dizaines, voire de centaines d'années, son diagnostic étiologique.

Les cliniciens savaient depuis très longtemps l'existence d'anémies hémolytiques congénitales non micro-sphérocytaires, donc distinctes de la maladie de Minkowski-Chauffard. D'autre part, avec Dreschfeld (43) dès 1888, Smillie (111) en 1920 et Cordes (31) en 1926, ils soupçonnèrent déjà le rôle de certaines drogues dans le déclenchement d'hémolyse chez des patients sous traitement.

Et si dès 1931 Warburg et Christian (120) découvrirent leur "Zwischenferment" devenu l'enzyme glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G-6-PD), il a fallu attendre 1956 pour que Carson (20) établisse que les sujets chez lesquels la Primaquine déclenchait une hémolyse, avaient en commun une carence en cette enzyme. C'est alors que l'étiologie des "Primaquin-sensitive-hemolytic-anemia" fut enfin élucidée.

Un important nouveau chapitre de la recherche va désormais passionner cliniciens et "fondamentalistes".

Le contexte historique de la découverte de Carson explique peut-être que des chercheurs peu prudents, ou pas assez rigoureux, se soient empressés de voir dans la carence en G-6-PD érythrocytaire une tare raciale. Par la suite, assez rapidement, de nombreux travaux sérieux ont mis l'affirmation en défaut. Et aujourd'hui, d'éminents savants, dont les professeurs Jean Bernard et Jacques Ruffié (9) s'accordent à n'y retenir qu'une forme de "radiation adaptative", sorte de réaction avantageuse de l'être vivant, en réponse à des contraintes écologiques plus ou moins sévères auxquelles il a été soumis au cours de l'évolution phylogénique.

Que l'affection soit héréditaire, et que sa plus forte prévalence se rencontre chez les peuplades des régions de longue hyperendémie paludéenne, personne ne le conteste actuellement. Mais pour Jean Bernard (9) il n'en est pas pour autant tolérable, que de nos jours, en France où vivent une bonne proportion de travailleurs migrants et d'autochtones méditerranéens, un praticien puisse ignorer ou minimiser que 5 à 10 % de personnes déficientes en G-6-PD courent le risque d'accidents hémolytiques graves, par suite de médicaments administrés !

Cela nous a tout naturellement incité à nous demander si cette mise en garde ne pouvait pas également s'adresser aux praticiens de la Cité de Calvin ?

En effet, par sa triple vocation de carrefour international, de pôle industriel d'attraction des travailleurs migrants, méditerranéens surtout (tabl. I), et de siège de multiples organisations internationales, Genève aura forcément une population résidente cosmopolite. Ce qui ne va pas sans un cortège d'affections "importées", héréditaires ou acquises, et que le jeu des naturalisations et des mariages inévitables, finira par implanter de façon durable !

C'est pour répondre à cette interrogation que nous avons entrepris ce travail.

ETAT DE LA POPULATION RESIDENTE DU CANTON DE GENEVE EN 1973 : REPARTITION DU % SELON LA CLASSE D'AGES, L'ORIGINE ET LE SEXE.

TOTAL en 1973 : 334 210		CLASSES D'AGES															
♂ = 47 % ♀ = 53 %		0 à 64 ans = 88 %				0 à 19 ans = 25 %				20 à 64 ans = 63 % (actifs)							
		♂ = 48 % ♀ = 52 %				♂ = 50 % ♀ = 50 %				♂ = 47 % ♀ = 53 %							
SUISSES		ETRANGERS		SUISSES		ETRANGERS		SUISSES		ETRANGERS		SUISSES		ETRANGERS			
66 %		34 %		64 %		36 %		59 %		41 %		65 %		35 %			
♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
45 %	55 %	50 %	50 %	47 %	53 %	51 %	49 %	50 %	50 %	50 %	50 %	45 %	55 %	51 %	49 %		

- NB: 1. Les éléments de ce tableau ont été calculés à partir de données du Bureau des Statistiques de l'Etat de Genève (cf. "Etat de la Population", p.52-53)
 2. La forte natalité de la population étrangère (50% du total des naissances pour un tiers seulement de la population totale !) a sensiblement relevé le % des étrangers dans la classe d'âge " 0 à 19 ans"
 3. Cette population étrangère se répartit en : Méditerranéens 57 % ; Africains 2% ; Autres 41%

Tableau I

Généralités

L'enzyme glucose-6-phosphate-deshydrogénase (G-6-PD) est très répandue dans la nature. Son appellation codée selon la nomenclature internationale actuelle est :

"D-glucose-6-phosphate : NADP-oxydo-reductase. E. C. 1.1.1.49"

On la rencontre chez tous les vertébrés, ce qu'explique sa positions clé dans le processus de glycolyse aérobie (fig. 1). On l'a décrite chez le chimpanzé (104), chez le chien (112), la souris, etc... On sait que la levure en est très riche (87). Chez l'homme, c'est l'érythrocyte qui en a le plus gros capital, mais le cristallin, le foie, les glandes mammaires (61) et salivaires (99) en sont riches.

SCHEMA DES REACTIONS DANS L'ERYTHROCYTE.

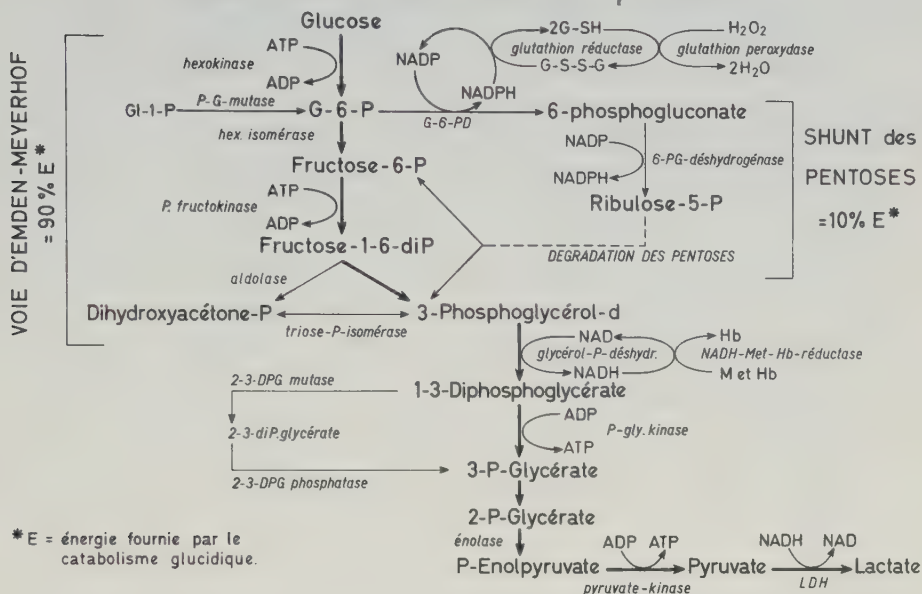


Figure 1

Si chez l'homme on a décrit de nos jours, plus d'une centaine de variantes dont certaines ont une activité déficitaire, chez l'animal, la carence en G-6-PD est encore exceptionnelle. Le seul cas que nous en ayons trouvé dans la littérature est celui que Smith (112) a décrit chez le chien. C'est pourquoi on manque de modèle animal pour l'étude de cette déficience enzymatique.

Selon D. Keller (67), c'est l'enzymopénie la plus répandue dont les conséquences morbides peuvent mener à l'hôpital. L. Vovan (119) est aussi de cet avis. On compte plus de 100 millions d'individus dans le monde qui en sont atteints. Rien qu'aux Etats-Unis il y a plus de 4 millions, avec une prévalence record chez les Noirs, au moins égale à celle de la drépanocytose (10 à 15 %). Le sujet a fourni une florissante littérature dont Dan F. Keller (119) en a fait une revue récapitulative très exhaustive. Nous lui empruntons la répartition des plus fortes prévalences dans le monde :

Caucasians :

Sephardic (Mediterranean and Asiatic)	
Jews	2-36 %
Ashkenazy (European) Jews	0 %
Non-Ashkenazy Jews	
males	0-23.6 %
females	0-44.4 %
Kurdish Jews	60 %
Sardinians	14-48 %
Italians (excluding Sardinians)	0.35 %
Caucasians of Italian origin	1.3-2 %
Caucasians of Greek origin	3 %
Iranians	5-15 %
Iranians Moslems	8.5 %
Arabs	3-13 %

Negroes :

North American Negro males	12-15 %
North American Negro females	
homozygous	1-3 %
heterozygous	16-20 %
Congolese Bantus	3-21 %
African Tribes	0-28 %

Other Groups :

Filipinos	13 %
Japanese	0 %
Chinese	2-5.5 %
Thai males	11 %
Alaskan Eskimos	0 %
North American Indians	0 %
Asiatic Indians	3-8 %
Peruvians	0 %
Punjabis	13.5 %

Incidents of G-6-PD deficiency among various ethnic groups as reported in the literature and compiled from various sources. 13 26 163 171 188 206-213.

Historique

Depuis Carson (20) le déficit en G-6-PD a fait son entrée en clinique en tant qu'entité nosologique, à travers les "primaquine-sensitive-hemolytic-anemia". La découverte de Carson a été précédée et certainement facilitée par des travaux méritoires :

Ainsi, selon Shahidi (105) c'est à Dreschfeld (43) que nous devons, en 1888, le premier rapport sur le pouvoir hémolysant d'un médicament antipyrétique, la "Picodine". Tandis que Smillie (111) serait le premier, en 1920, à attirer l'attention sur la susceptibilité individuelle aux effets hémolysants de certaines drogues. Wilhelm Cordes (31) en 1926, publie le premier compte-rendu sur des accidents hémolytiques survenus chez des paludéens de race noire traités à la plasmaquine (premier antimalarique de synthèse) à l'hôpital de U.S. Frut and Co. à Cuba. Pourtant, depuis un siècle déjà, en 1820, Pelletier et Caven-tou avaient extrait de l'écorce de "Cinchona" venue d'Amérique Latine, la quinine (méthyl-cupréine) très efficace contre les schizontes circulants de l'accès palustre ! La quinine, et encore moins l'écorce de quinquina n'étaient guère encore accusées d'agents hémolysants. Mais avec la deuxième guerre mondiale, la route du quinquina est coupée. Il fallait trouver un succédané pour enrayer les ravages que la malaria faisait chez les U.S. militaires en Asie du Sud-Est. C'est alors que le groupe de chercheurs de l'U.S. Army de l'Université de Chicago s'illustra en 1946 avec les antimalariques de synthèse, dérivés 8-amino-quinoléines à double action gamétocide et schizonticide. Hélas ! on ne tarda pas à constater que ces drogues très efficaces produisaient chez environ 5 à 10 % des militaires noirs malades, ou choisis d'office pour l'essai, des accidents hémolytiques ! On supçonna un peu trop vite une tare raciale propre aux Noirs, avant de constater les mêmes accidents chez des militaires blancs d'origine caucasienne (67). En 1952, Earle (44) et Hochwald (56) de cette même équipe de Chicago, créèrent l'expression "primaquine-sensitivity", et établirent que la sévérité de l'hémolyse était fonction de la dose de primaquine administrée. Ils suspectèrent en plus, un facteur endogène propre au sujet. En collaboration avec Dern (37) ils démontrèrent par des transfusions croisées, qu'il s'agissait bien d'un défaut intra corpusculaire, et que d'autres drogues que la primaquine pouvaient déclencher les mêmes accidents hémolytiques.

En 1955, E. Beutler prouva l'insuffisance du taux de glutathion réduit (G-S-H) érythrocytaire chez les sujets "primaquine-sensibles", et son effondrement lors de l'incubation de l'hémolysat avec l'acétyl-phényl-hydrazine.

Alors vient Carson, en 1956, qui le premier, établit qu'entre ces personnes "primaquine sensibles", le commun dénominateur était une carence de leurs érythrocytes en enzyme glucose-6-phosphate-desydhrogénase. C'est alors l'inauguration d'un nouveau champ de recherche, les enzymopathies érythrocy-taires, dont l'exploration a conduit aux hémoglobinopathies (119).

En clinique, l'historique de cette découverte a aidé à l'avènement de l'hématologie géographique qui rend compte de certaines tares résultant d'une exagération ou d'une déviation des phénomènes d'adaptation de l'espèce à sa niche écologique. Nous verrons plus loin qu'en génétique également les chercheurs ont pris une large part du gâteau G-6-PD (73-78-87) dès qu'en 1957-1958

Browne (18) et Childs (26) établirent que le déficit en G-6-PD est une tare codée par un gène du chromosome X, situé sur le même locus que les gènes du daltonisme et de l'hémophilie A. Depuis les travaux d'Ohno (87) d'abord, et de Mary Lyon (73) ensuite, l'enzyme est considérée en génétique comme un excellent marqueur pour l'étude du mosaïcisme du chromosome X, et de l'hypothèse fort séduisante de "gene-inactivation" que nous verrons plus loin

II. MATERIEL ET METHODE

Nous avons adopté la méthode de dosage photométrique standardisée en 1967 par un groupe de scientifiques de l'Organisation Mondiale de la Santé (89). De nos jours, c'est la méthode qui rend le mieux compte de l'activité catalytique de la glucose-6-phosphate-deshydrogénase intra érythrocytaire. C'est une méthode de référence qui présente certes quelques lacunes mineures que nous analyserons plus loin, mais qui est nettement supérieure à toutes celles dites de dépistage.

A) P r i n c i p e :

Il se déduit tout naturellement du schéma des réactions de la figure 1, où l'on voit le rôle clé qui revient à la glucose-6-phosphate-deshydrogénase dans la glycolyse aérobie, via le shunt des pentoses, au sein de l'érythrocyte. Comme son nom l'indique, l'enzyme glucose-6-phosphate-deshydrogénase est une deshydrogénase. Sa détermination répond donc au "fameux test optique d'Otto Warburg", cité par notre ami le Docteur Marc Roth dans sa très belle leçon inaugurale de Privat-Dozent sur l'enzymologie clinique (102). En présence de son cofacteur obligatoire, le NADP (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate), l'enzyme enlève au substrat G-6-P (glucose-6-phosphate) 2 électrons H qui vont réduire le NADP en NADPH, avec formation de 6-phosphogluconate (6-PG). Cet NADPH va réduire le glutathion G-S-G de la membrane de l'érythrocyte en G-S-H.

L'absorption maximale du NADPH se fait à la longueur d'onde de 340 nm. A cette longueur d'onde et à température optimale, dans des conditions déterminées d'excès de substrat G-6-P et de cofacteur NADP, la quantité de NADPH formé pendant le temps t est fonction de la quantité de G-6-P contenue dans un hémolysat donné. Donc, bien qu'on dose réellement le cofacteur réduit, son rapport équimoléculaire avec l'enzyme autorise qu'on exprime les résultats en unités d'enzyme, si on rapporte ces résultats au taux d'hémoglobine (ou au nombre de globules rouges) de l'hémolysat analysé.

La figure 1 montre également qu'une partie du NADPH mesuré au photomètre provient d'une autre deshydrogénase, la 6-phosphogluconate-deshydrogénase (6-PGD) qui a le même cofacteur NADP. Mais on contourne aisément la difficulté par le système à 3 cuvettes de Zinkham (Bull. John Hopk. 102, 169, 1958). D'ailleurs selon le mode de préparation des réactifs et la technique opérationnelle, on peut rendre cette fraction négligeable. C'est ce qu'a fait Calbiochem (19) pour arriver à attribuer $83 \pm 8\%$ du NADPH formé à l'activité propre de la glucose-6-phosphate-deshydrogénase. Ces résultats comparés à ceux de Lowe (Clin. chem. 18, 440, 1970) qui a corrigé l'influence de la 6-phosphogluconate-deshydrogénase, donnent un coefficient de corrélation $r = 0,966$.

C'est pourquoi nous avons préféré les réactifs et la technique de Cal-biochem.

B) Echantillonnage

Dans l'élaboration d'un échantillon statistiquement représentatif de la population résidente de Genève, nous avons largement bénéficié de l'aide technique de Monsieur Johnson, ingénieur statisticien au Siège de l'O. M. S. Qu'il nous soit permis de l'en remercier ici !

Nous avons d'abord procédé à l'analyse statistique de l'état de la population résidente (tableau I). Un échantillon de 628 personnes, dont la composition selon le sexe, l'âge et la nationalité, reflète fidèlement le tableau I, a été retenu comme représentatif de cette population.

De la même manière, pour établir la valeur moyenne normale de l'activité de la G-6-PD érythrocytaire de cette population, a été choisi l'échantillon que nous avons intitulé "Donneurs I de Genève" dans le "tableau récapitulatif". Il s'agit de 420 volontaires "normaux" venus pour la première fois donner du sang au Centre de Transfusion de notre Hôpital, sans contrôle hématologique sélectif au préalable.

Pour des raisons de contrôle de qualité de la méthode, nous avons été amenés à étudier des échantillons de Dakar au Sénégal où des travaux antérieurs (62-101 et 107) ont établi la prévalence du déficit en G-6-PD. Les résultats sont consignés dans le "tableau récapitulatif".

L'échantillon de "cas à hauts risques" (tableau IV) représente un collectif de patients hospitalisés par suite d'un accident hémolytique de gravité variable, où le rôle déclenchant d'un médicament a été fortement suspecté, soit à travers l'anamnèse, soit par exclusion des autres causes habituelles d'hémolyse aiguë. On y trouve également des patients où le diagnostic de malaria a inspiré au médecin averti, la prudence de faire doser l'activité de la G-6-PD érythrocytaire avant d'entreprendre un traitement aux antimalariques dérivés aminoquinones, associés ou non aux sulfamidés. L'enquête épidémiologique à partir de cas de carence en G-6-PD diagnostiquée au laboratoire, a parfois enrichi le lot de quelques porteurs asymptomatiques du trait.

C) Matériel

1) Echantillon : 2 à 3 ml de sang veineux (avec ou sans garrot) sont recueillis dans un tube en matière plastique de 5 ml à fond arrondi, contenant un anticoagulant, dans le rapport de 1 volume pour 4 volumes de sang, le tout bien mélangé. Nous avons employé de l'A. C. D-b (acide citrique dextrose) des Banques de sang où les hématies peuvent rester plus de 2 semaines sans altération majeure. Cela nous a permis de faire venir des échantillons, de Dakar à Genève, sans problème, grâce au dévouement du Docteur M. Fall.

D'autres anticoagulants tels que l'éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA), l'héparine ou le citrate peuvent convenir, à condition de procéder au dosage de l'enzyme dans les 3 à 4 jours, pour autant que l'échantillon ait été conservé au frigo, entre 4 et 6° C.

2) Réactifs : le substrat G-6-P et le cofacteur NADP sont ceux commercialisés par Calbiochem (19) : "Calbiochem Reagents Stat-PackTM", catalogue No 869207.

a) Flacon "A" contenant :

- tampon TRIS :	0,05 mole/l
- sel de Mg :	$7,4 \times 10^{-3}$ mole/l
- Glucose-6-phosphate :	$3,8 \times 10^{-3}$ mole/l
- Ph :	7,5

b) Flacon "B" contenant :

- NADP :	$4,5 \times 10^{-4}$ mole/l
- un stabilisateur neutre	

Le contenu des 2 flacons est une poudre blanche anhydre, placée sous vide.

Un prospectus pour la technique des opérations accompagne chaque boîte de réactifs. Pour la reconstitution des solutions, on ajoute dans le flacon "B" 15,5 ml d'eau bidistillée et on mélange doucement par retournements successifs. La solution ainsi obtenue est alors versée dans le flacon "A", et on mélange de la même façon jusqu'à dissolution de la poudre. La solution finale "A" + "B" est prête à l'emploi. Elle est stable 90 à 120 minutes à la température ambiante du laboratoire. Mais entre 2 et 8°C, elle est stable pendant 48 heures. Eviter toute contamination par des bactéries ou des champignons qui la rendrait impropre à l'usage.

Les flacons de poudre anhydre non ouverts et conservés entre 2 et 8°C sont stables pendant des mois, voire même des années. Ce que l'expérience nous a appris et que ne dit pas le fabricant, c'est que sous congélation, la solution de réactifs reste active pendant des mois. L'essentiel est qu'entre la reconstitution de la solution et sa congélation il ne s'écoule pas plus de 90 minutes ; que la décongélation soit progressive et que la réutilisation pour un dosage se fasse dans la demi-heure qui suit cette décongélation. Nous avons par ailleurs remarqué qu'au-delà de 3 à 4 mois de congélation de la solution, il y avait une légère suractivation.

Le fabricant conseille de jeter toute solution fraîchement reconstituée qui, testée contre le "blanc" d'eau distillée, accuse une densité optique supérieure à 0,6 à la longueur d'onde de 340 nm.

c) Solution de saponine à 0,01 % (W/V) pour hémolyser le culot d'érythrocytes.

d) Solution de NaCl 0,9 % (W/V)

e) Nécessaire pour le dosage de l'hémoglobine dans l'échantillon d'hémolysat par la méthode photométrique, à la cyanmethémoglobine : le réactif est la solution de Drabkin (ferricyanure de potassium). A ne pas pipetter à la bouche car très toxique (employer le pipetage à la poire de caoutchouc).

Le mélange d'hémolysat et de cette solution donne de la cyanmethémoglobine qui présente un maximum d'absorption à la longueur d'onde de 540 nm. A l'abri de la lumière, ce mélange reste stable pendant des heures. La lecture

se fait au photomètre, contre une solution commerciale étalon de cyanmethé-moglobine (Hemo-trol par exemple). On peut aussi faire une courbe d'étalon-nage avec cet étalon du commerce, pour un photomètre donné, avec lequel on fera tous les autres dosages d'hémoglobine.

f) Photomètre : nous avons employé le Beckmann D. B.

g) Verrerie :

- cuves en quartz pour photométrie à chemin optique de 1 cm
- pipettes jaugées, micropipettes (en plastic de Beckmann de 20, 50 et 100 microlitres)
- tubes en verre et en plastic, à fond arrondi
- bain-marie, thermomètre et chronomètre

h) Centrifugeuse : pouvant atteindre au moins 3000 tours/minute sans échauffement.

D) Technique opérationnelle

1) Préparation de l'hémolysat : l'échantillon de sang est centrifugé une première fois à 3000t/minute, pendant 10 minutes. Ensuite le culot d'érythrocytes est dilué dans environ 4 à 5 volumes de solution NaCl 0,9 % et on centrifuge de la même manière. Cette opération de lavage des érythrocytes sera faite 2 ou 3 fois. On enlève le maximum d'eau possible pour ne garder que le culot d'érythrocytes dont on prélève 0,2 ml qu'on va hémolyser avec 1,8 ml de solution à 0,01 % de saponine. Mélanger bien et laisser 10 minutes au frigo à 4-6° C.

On centrifuge cet hémolysat à 3000 tours/minute pendant 10 minutes, pour couler au fond du tube en plastic le stroma et ne garder que le surnageant limpide dont on prélèvera 100 microlitres pour le dosage de la G-6-PD, et 20 microlitres pour celui de l'hémoglobine.

2) Dosage enzymatique :

- Dans une cuve mettre 3,0 ml de solution reconstituée de réactif.
- Le photomètre et le bain-marie sont auparavant portés à 30° C (température optimale de la cynétique de la G-6-PD dans les conditions de Calbiochem).
- Laisser incuber la cuve à réactifs pendant 3 à 5 minutes, pour l'amener à la température de 30° C avant d'y ajouter 100 microlitres (avec micropipettes Beckmann) d'hémolysat. Mélanger par retournements successifs de la cuve fermée avec du parafilm (éviter les bulles).
- Placer cette cuve et celle contenant le "blanc" d'eau distillée dans les porte-cuves du photomètre et attendre environ 5 minutes avant de lire la densité optique initiale A_0 en déclenchant simultanément le chronomètre.

- Très exactement 5 minutes après la lecture initiale, faire la lecture finale A_5 :

d'où : $d(A) = A_5 - A_0 =$ densité optique totale de la prise d'essai pendant 5 minutes à 30° C.

- Il peut arriver qu'une absorbance trop élevée de l'hémolysat gêne la lecture initiale A_0 . Dans ce cas on peut faire le zéro de l'appareil avec un "blanc" de 3,0 ml de NaCl à 0,9 % + 100 microlitres d'hémolysat. Nous avons d'emblée adopté ce procédé tout du long pour éviter cet inconvénient de lecture. Si l'absorbance totale d(A) dépasse 0,38/5 minutes (activité de la G-6-PD supérieure à 0,38 UI/ml d'hémolysat), il faut refaire l'analyse en diluant la prise d'essai, et en tenant compte d'un coefficient de dilution dans le calcul. Si par exemple, on prend 50 microlitres au lieu de 100 d'hémolysat pour les mêmes 3,0 ml de réactifs, il faudra multiplier le résultat par un facteur de dilution $D = 1,97 = 2$ environ.

3) Calcul de l'activité enzymatique : la concentration de G-6-PD rapportée à celle de l'hémoglobine dans l'hémolysat est :

$$G-6-PD = d(A) \text{ 5 minutes } \times 100 \times F \times D \times \frac{1}{\text{Hb. hémolysat g/ml}}$$

Dans cette formule :

F = facteur de correction de la température de l'expérience.

Si $T^0 = 30^\circ \text{C}$, on a $F = 1$

D = facteur de dilution de l'hémolysat.

$D = 1$ si on a pris 100 microlitres d'hémolysat pour 3,0 ml de réactifs ;
dans ces conditions on aura comme activité :

$$G-6-PD \text{ (en UI/g-Hb)} = d(A) \times \frac{1}{\text{Hb hémolysat en g/ml}}$$

Si par exemple on a en 5 minutes :

$$d(A) = A_5 - A_0 = 0,470 - 0,350 = 0,120 \text{ DO}$$

Concentration de l'hémolysat en Hb = 0,030 g/ml

$$G-6-PD = 0,120 \times 100 \times \frac{1}{0,030} = \frac{120}{3} = 4$$

$$= 4 \text{ UI/g-Hb à } 30^\circ \text{C.}$$

UI = unité internationale, c'est-à-dire l'activité enzymatique qui catalyse la conversion d'un micromole de substrat en 1 minute, dans les conditions standard.

Le facteur de correction F de la température intervient chaque fois que le dosage ne se fait pas à 30°C . Il faudra donc se reporter au tableau suivant des valeurs de F :

T^0	F	T^0	F
25	1,22	31	0,96
26	1,17	32	0,92
28	1,08	33	0,88
29	1,04	34	0,85
30	1	35	0,82

III. RESULTATS

1) Normes standard de l'activité de la G-6-PD érythrocytaire de la population genevoise :

a) Résultats des mesures :

- Valeur moyenne :
$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n} = 6,9 \text{ UI/g-Hb à } 30^\circ \text{ C}$$

(X_i = valeur individuelle
n = nombre d'échantillons analysés)

- Ecart-type :
$$S = \pm \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} = 0,9 \text{ UI/g-Hb à } 30^\circ \text{ C}$$

- Coefficient de variation :
$$C.V = \pm \frac{S \times 100}{\bar{X}} \quad \% = \pm 7,8 \%$$

- Intervalle de $\pm 2 S$:

$$\bar{X} - 2S = 6,9 - 1,8 = 5,1 \text{ UI/g-Hb à } 30^\circ \text{ C}$$

$$\bar{X} + 2S = 6,9 + 1,8 = 8,7 \text{ UI/g-Hb à } 30^\circ \text{ C}$$

D'où, pour Genève, la fourchette des normes de la G-6-PD se situe entre 5 et 9 UI/g-Hb à 30° C.

b) Remarques :

Calbiochem a trouvé pratiquement les mêmes valeurs avec un échantillon de "normaux" comprenant 55 femmes de 21 à 78 ans et 51 hommes de 17 à 72 ans.

Avec un bon photomètre comme celui de Beckmann que nous avons utilisé, la sensibilité de la méthode atteint 0,1 UI/g-Hb. Le dosage photométrique de l'hémoglobine a donné une fourchette de normes pour cette population genevoise, entre 2,7 et 3,9 g/100 ml d'hémolysat.

2) Contrôle de qualité :

Pour aborder un aspect du contrôle de la méthode, nous avons été amené à étudier un échantillon de Dakar, dont l'agencement est reflété dans le "tableau récapitulatif" (colonnes 1-2-3 et 4). Les échantillons de sang de cordons et de nourrissons ont été accompagnés de frottis où Madame Fall a chaque fois compte les réticulocytes. Il en ressort que pour le cordon et chez les enfants de moins de 5 jours, la valeur moyenne de la réticulocytose est de 30 pour 1000 érythrocytes, alors que pour les nourrissons entre 5 et 36 jours d'âge elle varie de 2 à 10 pour 1000 érythrocytes.

Par ailleurs, le "tableau récapitulatif" montre que sur 160 échantillons de sang de cordons (79 garçons et 81 filles) analysés, il n'y a eu aucun déficit.

Alors que chez 135 nouveaux-nés de moins de 5 jours (67 garçons et 68 filles) il y a eu 2 % de déficit en G-6-PD, tous du sexe mâle ; que pour 46 enfants entre 5 et 36 jours d'âge (29 garçons et 17 filles) il y en a eu pour 15 %.

De ces résultats il découle que l'importance de la réticulocytose constitue une limite à la fiabilité de la méthode photométrique, qui peut alors donner de faux négatifs. Et cela a été bien illustré dans le cas de 2 garçons jumeaux univitellins de Dakar, dont la mère accusa un grave déficit. Les échantillons de leurs cordons et ceux de leur propre sang veineux du premier jour donnèrent une activité normale de la G-6-PD érythrocytaire. Mais ce que nous savons de la transmission génétique de la tare, nous incita à effectuer un dosage de contrôle plus tard, à l'âge de un mois. Et ce que nous avions prévu arriva : le déficit enzymatique apparut avec exactement le même chiffre de 2,3 UI/g-Hb à 30° C chez les deux jumeaux univitellins.

Il convient de signaler que chez les 7 couples de jumeaux univitellins de Dakar et les 5 de Genève, nous avons trouvé chaque fois, entre deux individus d'une même paire, exactement le même chiffre pour la G-6-PD. On pouvait s'y attendre. Et c'est peut-être là un paramètre supplémentaire dans le diagnostic biologique de jumeaux vrais.

3) Evaluation de la prévalence de la déficience en G-6-PD érythrocytaire dans la population résidente de Genève :

Les résultats sont résumés dans le tableau III dont la ventilation est la suivante :

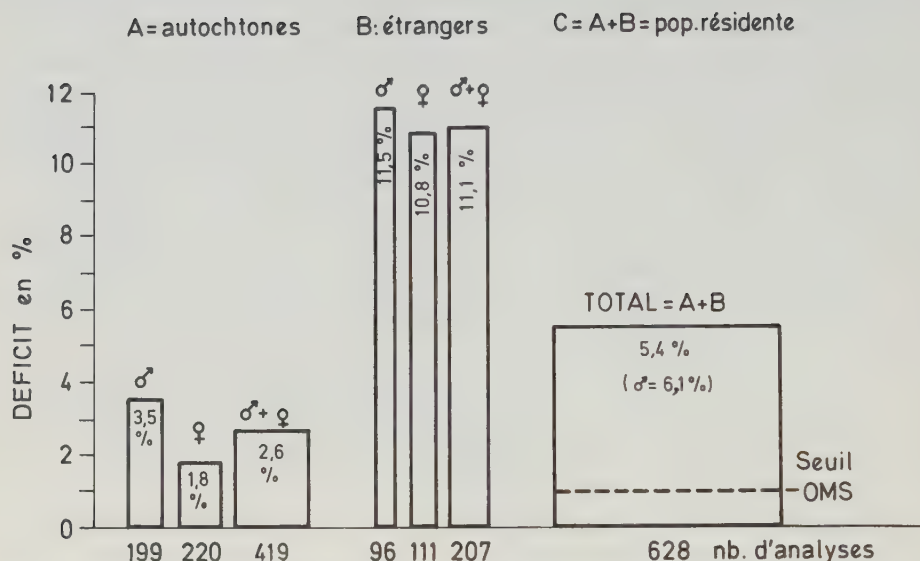
- prévalence globale : 5,4 % (avec une majorité pour les hommes)
- prévalence dans la population autochtone : 2,6 % (avec une part majoritaire pour les hommes).
- prévalence dans la population étrangère : 11,1 % (hommes et femmes presque à égalité).

4) "Cas à hauts risques" (tableau IV)

Ici les manifestations cliniques qui ont conduit les médecins à nous demander le test, nous ont dicté la prudence de refaire une ou plusieurs analyses de contrôle ultérieur, à chaque fois qu'un premier résultat s'avérait pathologique. Un frottis contemporain à la prise d'essai a toujours été demandé pour compter les réticulocytes.

A réticulocytose sensiblement égale, l'écart entre les dosages répétés chez un même patient est toujours resté dans l'intervalle de confiance de 2 déviations standards admis en statistique. Ce qui, en contrôle de qualité, atteste de la reproductibilité et de la précision de la méthode.

Chaque fois qu'une activité enzymatique normale était contemporaine d'un compte réticulocytaire supérieur à 20 pour 1000 érythrocytes, l'analyse a été recontrôlée ultérieurement, dans des conditions physiologiques de réticulocytose, sinon l'échantillon était exclu de l'étude. Les résultats sont résumés dans le tableau IV, dont la ventilation est la suivante :



Prévalence du déficit en G-6-PD dans la population résidente genevoise
1973-1975

Tableau III

- de 1972 à 1976 ont été récoltés 70 patients soit 43 hommes (61 %) et 27 femmes (39 %) ou 53 étrangers (76 %) et 17 autochtones (24 %).
- Sur 70 analyses, 27, soit 39 % ont accusé un résultat franchement déficitaire (inférieurs à la moyenne $\bar{X}$ de plus de 3 S)...
- Sur ces 27 cas de carence en G-6-PD, il n'y a que 2 autochtones, tous naturalisés (1 homme d'origine corse et une femme sicilienne). Les 25 autres, soit 97 % sont des étrangers (10 d'origine méditerranéenne, 8 d'origine africaine et 7 d'origine arabo-asiatique).
- Sur les 43 avec activité de la G-6-PD normale, 13 ont un problème hémolytique (avec ou sans hospitalisation) où des médicaments sont impliqués dans 2 cas seulement.
- Par contre, dans les 27 cas déficitaires, 13, soit 48 % posaient un problème hémolytique, où des médicaments sont impliqués dans 9, avec hospitalisation !
- A partir de ces constations, la déduction qui s'impose est qu'il y a un rapport de causalité certaine entre la carence en G-6-PD et la fréquence des accidents hémolytiques induits par l'administration de médicaments.

TABLEAU No IV / Cas à hauts risques

		TOTAL : de 1972 à 1976 = 7 0 (O = 43 = 61 % ; O = 27 = 39 %) p. r. t. = population résidente totale p. r. e. = population résidente étrangère		ACTIVITE DE LA G-6-PD ERYTHROCYTAIRE						
				Normale = 43 cas (61 %)		Déficiente = 27 cas (39 %)				
				avec problème hémolyt.	sans problème hémolyt.	avec problème hémolyt.	sans pr. hém.	Total		
AUTOCHONES (Tot. = 17 = 24 %) (66 de p. r. t.)	HOMMES	5	6	1 (Corse)	0	12				
		sans médicam.	sans médicam.	sans médicam.						
		2	3	1	-					
	FEMMES	1 (It)	3	1 (It)	0	5				
		sans médicam.	sans médicam.	sans médicam.						
		-	1	-	1	-				
ETRANGERS. (tot. = 53 = 76 % - (34 % de p. r. t.)	MEDITERRANEENS (Tot. = 29 = 55 % de 70) (57 % de p. r. e.)	HOMMES	2	7	5	3	17			
			sans médicam.	sans médicam.	sans médicam.					
			-	2	3	2	-			
		FEMMES	4	4	1	3	12			
			sans médicam.	sans médicam.	sans médicam.					
			-	4	1	-	-			
	AFRICAINS NOIRS (Tot. = 13 = 24 % de 70) (2 % de p. r. e.)	HOMMES	0	4	0	3	7			
			sans médicam.	sans médicam.	sans médicam.					
			-	-	-	-	-			
		FEMMES	0	1	3	2	6			
			sans médicam.	sans médicam.	sans médicam.					
			-	-	2	1	-			
	IRANIENS + DIVERS (Tot. = 11 = 21 % de 70)	HOMMES	0	3 (2 Viet + 1 B)	1 (IR)	2 (IR)	6			
			sans médicam.	sans médicam.	sans médicam.					
			-	-	1	-				
		FEMMES	1 (F)	2 (F)	1 (IR)	1 (IR)	5			
			sans médicam.	sans médicam.	sans médicam.					
			-	1	1	-	-			
		2	13	11	30	9	13	4	14	70

g) Le tableau V résume la répartition selon l'origine géographique des 27 déficits trouvés chez 70 "cas à hauts risques".

Si on se réfère à l'origine et non à la nationalité, le tableau montre que tous les 27 sont des étrangers.

Répartition des 27 cas de carence en G-6-PD érythrocytaire , selon l'origine géographique.

	1 SUISSE	2 ITALIE	3 FRANCE	4 GRECE	5 TUNISIE	6 HOLLANDE	7 TCHECOSL.	8 IRAN-USA	9 AFR. NOIRE
♂	1 (Corse)	3	0	0	1	1 (Israël)	1 (Israël)	5 (2 Israël)	3
♀	1 (Italie)	2	2 (Israël et Afrique)	1	0	0	0	2	4
TOTAL	2	5	2	1	1	1	1	7	7
% {	27	18,5	7,4	3,7	3,7	3,7	3,7	25,9	25,9
70	2,9	7,1	2,9	1,4	1,4	1,4	1,4	10	10

Tableau V

h) Le tableau VI relate la répartition des médicaments impliqués dans 12 accidents hémolytiques.

On y constate :

1. que sur 12 crises hémolytiques, 10, soit 83 % sont survenues chez des patients atteints de carence en G-6-PD.
2. que les sulfamidés détiennent chez ces patients le record de fréquence et de gravité des accidents hémolytiques, allant jusqu'à l'hémodialyse.
3. qu'on peut suspecter un rôle aggravant joué par l'infection urinaire dans la gravité des accidents hémolytiques dus aux sulfamidés chez les déficients en G-6-PD. Suspicion d'ailleurs affirmée par Allen (3), tandis que Norden (85) confirme le rôle de tête de file qui revient aux sulfamides parmi les médicaments inducteurs d'hémolyse chez les personnes atteintes de carence en G-6-PD. S'agit-il d'une simple impression statistique due au fait que les sulfamides sont peut-être plus fréquemment prescrits, surtout dans les infections urinaires ?

Texte du Tableau VI

- 1) Sur 12 accidents hémolytiques, 10 (soit 83 %) sont survenus chez des patients atteints de carence en G-6-PD érythrocytaire.
- 2) Les sulfamidés sont impliqués dans 6 sur 12, soit 50 % des cas. Viennent ensuite les analgésiques avec 25 % des cas.
- 3) Les sulfamidés sont impliqués dans tous les 3 cas graves ayant nécessité une hémodialyse (2 hommes et 1 femme)
- 4) Rôle aggravant probable de l'infection urinaire.

REPARTITION DES MEDICAMENTS IMPLIQUES DANS DOUZE CAS D'ACCIDENTS HEMOLYTIQUES.

	Nb.	Sexe	DIAGNOSTIC	MEDICAMENT	HEMO-LYSE	INSUFF. RENALE	REMARQUES
SULFAMIDES	4	♂ ♀ ♀ ♂	mal. During infection urinaire pyélite-grossesse infection urinaire		(+) +++ ++ +++	++ + ++	Hémodialyse Hémodialyse
SULFAMIDES + ANTIMALARIQUES	2	♂ ♀	malaria malaria puerpér.	sulfa+chloroquinine + sulfate quinine - id.-	+++ +	++ +	Hémodialyse
ANALGESIQUES	3	♂ ♀ ♂	mal de l'air iléite-péritonite P.C.E. inf. urinaire	"calmants" + aspirine benzazocine + amidopyrine phénacétine	++ (+) +	 ++	
SALICYLATES	1	♂	Tbc. caverneuse résistante à INH	P.A.S en i.v.	+++	++	
ANTI-INFLAMMAT.	1	♂	opéré de strabisme	oxyphenbutazone	(+)		Oedème post-op
ANESTHESIQUES	1 (?)	♂	opéré cardiaque	C.E.C.	+		Hémolyse post-op.
TOTAL	11+1						

Tableau VI

- 1) Sur 12 accidents hémolytiques, 10 (soit 83 %) sont survenus chez des patients atteints de carence en G-6-PD érythrocytaire.
- 2) Les sulfamidés sont impliqués dans 6 sur 12, soit 50 % des cas. Viennent ensuite les analgésiques avec 25 % des cas.
- 3) Les sulfamidés sont impliqués dans tous les 3 cas graves ayant nécessité une hémodialyse (2 hommes et 1 femme).
- 4) Rôle aggravant probable de l'infection urinaire.

IV. DISCUSSION

A) Critiques de la méthode :

1. Nous avons déjà parlé de l'interférence de l'activité de l'enzyme 6-phosphogluconate-deshydrogénase dans la production de NADPH mesuré au photomètre. Ecueil facile à résoudre, comme nous l'avons vu. Un autre écueil mineur réside dans le fait que la G-6-PD érythrocytaire montre une faible affinité pour les substrats galactose-6-phosphate et 2-deoxy-glucose-6-phosphate (2-d G-6-P). Dans les conditions physiologiques cette petite affinité est négligeable, mais cela montre que la spécificité de la G-6-PD pour le substrat glucose-6-phosphate n'est pas 100 % absolue. Pour négligeable qu'elle soit, cette petite affinité pour le 2-dG-6-P joue un rôle important comme paramètre supplémentaire dans l'arsenal de critères biochimiques de caractérisation des variantes de la G-6-PD.
2. Nous avons également vu qu'un taux important de réticulocytes et d'érythrocytes jeunes dans le sang périphérique du patient pouvait conduire à de "faux normaux" dans le dosage de la G-6-PD par la méthode photométrique. On doit en tenir compte surtout dans les régions comme Dakar où l'endémie parasitaire et l'existence concomittente de la drépanocytose et de la carence en G-6-PD chez une même personne, peuvent entretenir une anémie chronique avec hyper-réticulocytose réactionnelle. A ce titre l'O.M.S. rappelle qu'avec cette méthode un résultat normal de dosage de la G-6-PD, à côté d'une réticulocytose supérieure à 20 pour 1000 érythrocytes comptés, n'exclut guère un déficit. Il faut refaire le dosage dans des conditions physiologiques de réticulocytose périphérique.

On peut cependant contourner l'obstacle par le procédé de "centrifugation différentielle" (55-97) qui permet d'éliminer ou de limiter le nombre d'hématies jeunes de la prise d'essai :

le principe est basé sur la formule qui régit la force centrifuge

$$f = 1/2 m V^2$$

m = masse volumique (ou densité) du corpuscule en centrifugation

V = vitesse de rotation de la centrifugeuse

Lorsqu'on centrifuge une suspension de corpuscules de densité différente (comme le sang par exemple) les plus denses auront, en vertu de cette formule, une plus grande force centrifuge et seront projetés vers la périphérie. Il suffit alors de procéder exactement comme pour la détermination de l'hématocrite, avec les tubes capillaires. On remplit par exemple un capillaire de 10 cm de long, et on ferme à la flamme une extrémité qui sera dirigée

vers la périphérie de la centrifugeuse. A la fin de la centrifugation, on coupe le tube à 1 cm de cette extrémité. Ce bout périphérique de 1 cm de capillaire contient surtout des hématies adultes. Car on sait qu'ils sont plus denses par le fait qu'ils contiennent moins d'eau que les hématies jeunes. On prépare autant de capillaires qu'il faudra pour avoir 0,2 ml de culot d'hématies adultes pour le dosage de la G-6-PD.

Ce procédé très séduisant permet de faire la détermination de la G-6-PD en toute circonstance, même en pleine crise hémolytique (55) !

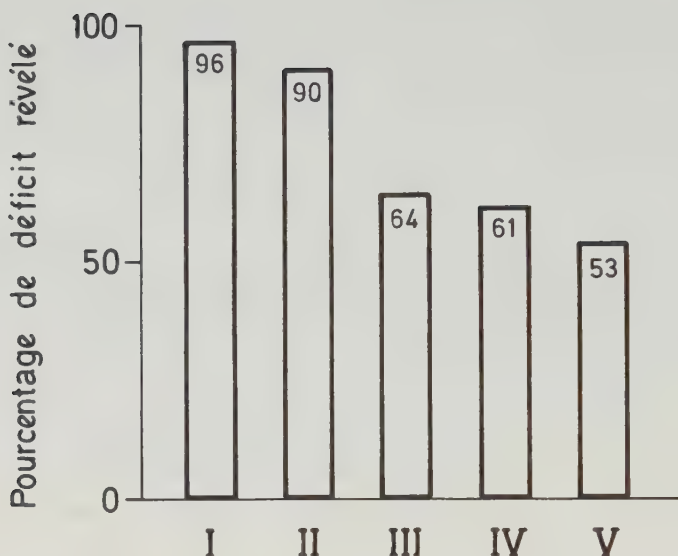
3) Rappel d'autres tests (tableau II)

De nombreux autres tests de l'activité de la G-6-PD ont été décrits. Ce sont surtout des tests qualitatifs ou semi quantitatifs de dépistage. On les trouve décrits dans la revue monographique de Dan F. Keller (67) :

- a) test de Beutler : stabilité du glutation dans une solution d'hémolysat et d'acétylphényl-hydrazine.
- b) test de Brewer : basé sur la réduction de la méthémoglobine par la NADPH-méthémoglobine-réductase.
- c) test de Motulsky : c'est un Dye-Test au brillant de Cresyl
- d) test de Fairbanks-Beutler : (MTT-spot-Test) Dye-Test au méthylthiozyl diphenyl tétrazolium.
- e) test cytochimique de Fairbanks : parfois appelé à tort test de Sansone, ce test très important dans le diagnostic des hétérozygotes du sexe femelle de la carence en G-6-PD, mérite une mention particulière ! La description détaillée est faite par Fairbanks dans Blood, 31, 589, 1968.

C'est aussi un Dye-Test au Mtt qu'on peut rendre semi-quantitatif ou même quantitatif. En présence d'hémoglobine, le MTT est réduit et forme des granulations pourpres, insolubles, de monoformazan intra érythrocytaires qu'on peut compter au microscope optique ordinaire. On incube d'abord des érythrocytes intacts avec du nitrite de sodium, ce qui oxyde l'hémoglobine en méthémoglobine. Puis on incube le tout avec du substrat hexose monophosphate, du Bleu du Nile et du MTT. Les érythrocytes riches en G-6-PD fourniront assez de NADPH, cofacteur indispensable à l'enzyme réductase de la méthémoglobine. La méthémoglobine réduite donne l'hémoglobine qui va réduire le MTT en granulations pourpres de monoformazan dans les globules rouges. Les hématies les plus riches en G-6-PD auront davantage de ces granulations pourpres, tandis que les hématies carencées auront peu ou pas de granulations. En prenant comme témoins des hématies d'un sujet qu'on sait normal, on peut déterminer le nombre de granulations qu'il faut au minimum pour dire qu'une hématie a une activité de la G-6-PD normale.

Cette méthode est assez longue, exige le respect strict des temps d'incubation et doit être interprétée par une technicien entraîné. Mais elle présente l'avantage sur les autres de permettre le diagnostic formel des cas hétéro-



ETUDE DE 69 ECHANTILLONS :

- I Dosage spectrophotométrique
- II Test de Brewer
- III Test de Kleihauer-Sansone
- IV Test de Beutler
- V Les quatre tests ensemble

D'après A.Orsini (Marseille Médical No.9,1969)

Tableau II

zygotes du sexe féminin qui ont un génotype déficitaire sans expression phénotypique. C'est grâce à elle qu'on a étudié le degré de mosaïcisme dans la carence en G-6-PD. Elle a permis de corroborer l'élégante hypothèse de "X-inactivation" chère à Mary Lyon. Cette hypothèse postule qu'un des deux chromosomes X dans chaque cellule somatique femelle est inactivée par l'autre, de façon aléatoire, durant les premiers moments de l'embryogénèse. Ce chromosome X une fois inactivé sera non fonctionnel dans toutes les futures cellules somatiques dérivant de la cellule primordiale. Ainsi les populations de cellules somatiques femelles, comme les cellules sanguines, forment une mosaïque pour les caractères déterminés par le chromo-

some inactivé. Pour la G-6-PD, seule la méthode cytochimique permettra d'identifier les hématies anormales à côté des normales sur le même frottis. Si nous nous sommes appuyés sur cette méthode, c'est qu'elle est toute désignée pour déceler les femmes porteuses du génotype africain de la tare, sans expression phénotypique.

Pour toutes ces méthodes, l'ingestion de certains médicaments peut affecter les résultats. C'est ce qu'affirme Young (Cf. Clin. Chem. 21 ; 1D-432D, 1975). Selon Shahidi (106) les salicylés ont un effet inhibiteur sur la G-6-PD, en plus de leur effet hémolysant sur les hématies.

La méthode immunologique inaugurée par Yoshida (124) est pour la typification des variantes nouvelles.

B) Commentaire du tableau III :

La prévalence globale de 5,4 % de carence en G-6-PD de la population résidente de Genève est loin d'être négligeable ! Même si on ne trouve que 2,6 % dans la population autochtone qui comporte environ 7 % de naturalisés dont 78 % sont d'origine méditerranéenne. Si on considère uniquement le secteur masculin de cette population (295 analyses) on trouve une prévalence de 6,1%. Sachant que les effets délétères de la carence génétique en G-6-PD se manifestent principalement chez les gens du sexe masculin, nous emboîtons le pas à l'O.M.S. (92) en répétant que toute prévalence "qui atteint plus de 1 % de l'élément masculin" présente un réel intérêt du point de vue de la santé publique, surtout dans un contexte socio-économico-culturel où l'abus de médicaments est un aspect de la réalité quotidienne.

Les résultats de ce tableau III nous autorisent ainsi à répondre affirmativement à la question qui nous a incité à entreprendre ce travail.

Ils semblent également "légitimer" ceux du tableau IV.

C) Commentaire du tableau IV :

Nous avons déjà défini au chapitre "Chantillonnage" ce que nous entendons par "cas à hauts risques", représentés au tableau IV. Si nous avons programmé cette rubrique c'est pour bien démontrer qu'il y a un réel aspect clinique qui découle de la prévalence non négligeable de la carence en G-6-PD dans la population de Genève.

Il est évident que nous ne prétendons pas avoir réuni tous les cas d'accidents hémolytiques du canton ou même de l'hôpital cantonal, survenus par suite de traitement médicamenteux ! Nous n'avons compilé que les 70 cas qu'une minorité de confrères plus ou moins avertis du problème, nous ont envoyés pour étayer leur diagnostic. Cela ne représente certainement pas la moitié du chiffre réel des accidents hémolytiques manifestes, survenus entre 1972 et 1976, et où des médicaments ont été impliqués, à tort ou à raison !

Donc ce tableau ne prétend pas fournir la vraie image statistique de l'aspect clinique du problème. Mais il est largement démonstratif de la tendance à la fréquence accusée des accidents hémolytiques médicamenteux chez les déficients en G-6-PD. Et ceux de Genève n'échappent pas à la règle, bien au contraire !

Si on consulte le tableau V on sera peut-être tentés de nous dire qu'à l'exception de deux genevois de fraîche date (naturalisés) tous les 27 cas de carence, sur 70 échantillons, concernent des étrangers. D'accord ! mais ils n'en sont pas moins un élément de la population résidente et intéressent par conséquent les praticiens de la Cité, gardiens de la santé de ses habitants. Et si preuve en était besoin, elle serait éclatante avec le tableau VI :

Sur 12 accidents hémolytiques, 6 sont survenus en milieu hospitalier, et 6 ambulatoirement, en pratique privée ! Et chose exhaustive, c'est que la presque totalité des accidents graves ayant conduit à une hémodialyse, sont survenus en pratique privée, et avec des sulfamides ! Quand on sait le pouvoir hémolysant de ces médicaments chez des déficients en G-6-PD, et la fréquence avec laquelle ils sont prescrits en pratique privée, il y a là matière à réflexion !

Quelques cas dramatiques de ce tableau VI nous invitent à réfléchir ! Nous en retenons 4 cas :

- 1er cas : une jeune femme d'origine perse fait une pyélite à la 34ème semaine de grossesse. Son médecin privé prescrit des sulfamides. Environ 36 heures après la première dose elle est conduite à l'hôpital dans un tableau clinique d'accident hémolytique grave. On arrive à la sauver et à ménager la grossesse jusqu'à la 37ème semaine où elle accouche d'un enfant microcéphale avec des signes évidents d'ictère nucléaire irréversible !
- 2ème cas : un jeune américain d'origine juive venant de New York par avion se sent mal en point et prend des "calmants" et des salicylés. Arrivé à Genève, il est hospitalisé le lendemain dans un tableau clinique d'hémolyse aiguë de gravité moyenne.
- 3ème cas : c'est celui d'un jeune confrère, iranien d'origine juive qui se plaint de malaise, d'hypodynamie à chaque infection virale des voies respiratoires supérieures. Au Service de Médecine on se lance dans toute une batterie d'investigations, jusqu'à la ponction de moelle, avant qu'un interne qui a fait les Etats-Unis ne subodore la possibilité d'une carence en G-6-PD. Ce qui a été confirmé !
- 4ème cas : il s'agit encore d'un jeune iranien admis en Sanatorium à Montana. Pour une tuberculose caverneuse résistante à l'Isoniaside ; il reçoit un traitement à l'acide para-amino-salicylique (PAS) en perfusion intra-veineuse. Au 2ème jour il présente tous les signes cardinaux d'une hémolyse grave. Au Laboratoire Central Madame le Docteur Duckert reçoit des urines couleur Bordeaux pour dosage de l'hémoglobininurie. Après avoir lu les renseignements cliniques, avec son bon sens habituel, elle nous demande non sans une pointe d'humour ! "Vous ne pensez pas que le médecin de ce jeune homme devrait plutôt s'adresser à votre laboratoire au lieu de demander des preuves biochimiques d'une hémolyse si évidente ?" Bonne question ! Car la cause étiologique de l'accident hémolytique n'avait guère frôlé l'esprit du médecin ! Sur notre suggestion il nous fit parvenir, 6 semaines après la crise hémolytique, un échantillon de sang où nous avons mis en évidence un déficit de moins de 0,5 UI (moins de 7 % de la normale) !

Nous avons évidemment publié (121) cet exemple fort illustratif de l'ignorance dans laquelle est tenue la grande majorité des confrères genevois, quant aux implications cliniques du déficit en G-6-PD dans leur Canton ! Ignorance peut-être entretenue par une sorte de confort intellectuel à l'endroit des affections dites "exotiques", parfois à tort !

Confort en tout cas peu justifié pour un médecin qui a vécu le drame de ces hémolyses graves ! Trop de confort, même intellectuel, émousse la vigilance ! Alors qu'ailleurs dans le monde, de Chicago à Dübingen, en passant par Seattle, Baltimore, Londres, Ibadan, Marseille, Tel Avive, Paris, etc... d'éminents chercheurs se passionnent de ce vaste champ de la recherche clinique, génétique et biochimique ! Alors même que l'Organisation Mondiale de la Santé lui a consacré à Genève, au même titre que les maladies cardiovasculaires, plusieurs de ses grandes réunions d'experts scientifiques (90-92) !

D) Considérations biochimiques :

1) Rappel de la nomenclature standardisée par l'O.M.S. (90) :

a) Critères de caractérisation :

1. - Activité de la G-6-PD érythrocytaire
2. - Migration électrophorétique
3. - Constante de Michaelis (Km)
4. - Taux relatif d'utilisation du 2-dG6P
5. - Thermostabilité
6. - Point iso-électrique
7. - Ph optimum d'activité de l'enzyme

A mesure que l'on progressera dans la connaissance du sujet, il est probable que d'autres paramètres viendront allonger la liste.

b) Recommandations :

On désigne les deux types normaux de G-6-PD par les symboles suivants :

B = G-6-PD d'activité et de migration électrophorétique normales.
Elle est plus fréquente chez les Caucasiens mais on la rencontre aussi chez les Noirs.

A = G-6-PD d'activité légèrement inférieure à celle de B, mais normale, et de migration électrophorétique plus rapide. Elle est propre à la race noire.

A ces deux types classiques correspondent deux grandes variantes déficitaires :

B- ou Gd(-), A- caractéristique des Noirs où elle connaît un grand polymorphisme.

c) Exemples de désignations phénotypiques et génotypiques :

Avec le sexe féminin par exemple, on peut avoir de nombreux phénotypes pour un seul génotype mère. Ainsi :

Gd($\pm$), B, A-

le génotype Gd^B / Gd^{A-} peut donner : Gd(+), B

Gd(-), A-

3 phénotypes selon l'activité de la variante et l'effet de l'inactivation du chromosome X.

d) Symboles pour exprimer le degré d'activité :

(-) : activité inférieure ou égale à 25 % de la norme moyenne

($\pm$) : activité comprise entre 25 et 65 %

(+) : activité normale (65 à 150 %)

(++) : activité supérieure à la moyenne d'au minimum 2 écarts-types.

- 2) Déterminisme biochimique de la déficience en G-6-PD : Yoshida (122) est le premier à avoir démontré que la différence moléculaire entre les types B et A de la G-6-PD tenait à la substitution d'un seul aminoacide entre leurs molécules respectives. Ainsi, l'une des 2 asparagines de la molécule de B est remplacée par un acide aspartique dans la molécule de A. Le nombre total d'aminoacides et le poids moléculaire sont sensiblement les mêmes dans les deux types. La molécule de l'enzyme G-6-PD est un dimère de poids moléculaire 240.000 environ (122). Les deux parties monomériques font obligatoirement intervenir le cofacteur NADP pour constituer un couple dimérique actif. On sait que la synthèse d'une molécule protéique obéit à un code génétique. Donc le nombre d'aminoacides qui la composent et leur séquence dans la chaîne polypeptidique obéissent au même processus génétique. Une protéine déterminée est codée par un gène donné. Les enzymes n'étant autres que des molécules de protéine, chaque enzyme a son gène. Qu'au hasard de l'évolution une mutation se produise au niveau de ce gène, et cela va se traduire au niveau de la molécule par des modifications plus ou moins profondes, affectant de façon variable l'activité de l'enzyme ayant pour support cette molécule. Une molécule enzymatique comporte des points particuliers, charnières de son activité catalytique, qu'on appelle sites actifs. Plus la mutation se portera loin de ces sites actifs, moins importantes seront les conséquences sur l'activité catalytique. Compte tenu de la longueur des chaînes polypeptidiques, la probabilité que la mutation affecte exactement le site d'action est assez faible.

C'est pourquoi les déficits enzymatiques totaux sont rares par rapport aux déficits relatifs de sévérité inégale.

Deux mécanismes moléculaires peuvent être avancés pour expliquer les carences en G-6-PD :

- a) synthèse en quantité suffisante d'une protéine d'activité normale, mais instable, vieillissant donc prématurément. Tant que le bilan entre la vitesse de synthèse de la protéine et la vitesse de sa destruction restera à l'actif de la synthèse, il sera loisible de penser qu'il n'y aura pas de déficit notable. Donc les cellules nucléées capables de synthétiser activement des protéines, auront un déficit moindre que celui des cellules dépourvues de noyaux, incapables de synthèse. Ainsi chez un même phéno-

type déficitaire, les granulocytes, les réticulocytes et autres cellules jeunes accuseront moins de déficit que les hématies adultes et les thrombocytes. Dans un tel cas de déficit, une hémolyse médicamenteuse qui détruit les hématies adultes provoquera, pour autant que la moelle osseuse reste normale, une crise réticulocytaire avec libération d'hématies jeunes. L'hémolyse s'arrêtera d'elle-même sans arrêt du traitement. Ce type de déficit est courant chez les Noirs où il est admis que les accidents hémolytiques médicamenteux sont plus rares et moins graves.

Selon Yoshida, il semble que presque toutes les variantes connues jusqu'ici souffrent, à des degrés divers, de cette instabilité moléculaire.

C'est elle qui rend compte des modifications transductionnelles par désamidation de la molécule enzymatique, au cours du vieillissement des cellules. Idée chère à A. Kahn, P. Boivin et C. Dreyfus de Paris (63).

- b) Synthèse d'une protéine d'activité d'emblée réduite. Il s'agira alors d'un défaut qualitatif de la molécule de l'enzyme et le déficit sera retrouvé dans toutes les cellules, même les plus jeunes. Non seulement l'activité enzymatique érythrocytaire sera déficitaire, mais même l'activité moléculaire spécifique sera réduite dans les leucocytes.

De plus, cette molécule qualitativement déficitaire peut aussi être instable chez certaines variantes. C'est le cas pour la variante Gd(-) méditerranéenne qu'on rencontre surtout en Europe, autour de la Méditerranée. Les personnes qui en sont atteintes seront plus exposées aux hémolyses médicamenteuses. Cela explique certainement le nombre élevé d'accidents hémolytiques que nous avons trouvés dans nos "cas à hauts risques" à Genève.

C'est certainement là qu'il faut aussi chercher l'explication de la grande fréquence d'ictères néonataux sévères avec la variante déficitaire grecque. Doxiadis (41 et 42) et Valaes (118) insistent sur cet aspect particulier de la variante grecque dans l'île de Lesbos où Valaes signale un ictère néonatal sévère chez 43 % de nouveaux-nés déficients en G-6-PD. A Singapour aussi Brown (17) signale la fréquence de l'ictère grave chez des nouveaux-nés avec carence en G-6-PD. A l'opposé, le Professeur M. Fall de Dakar trouve que l'ictère néonatal n'est ni fréquent ni particulièrement sévère dans son Service de Néonatalogie.

On a signalé chez ces personnes une certaine susceptibilité aux infections (3-83-96) qu'explique le rôle joué par la G-6-PD (via la stimulation de la voie des pentoses) dans le fonctionnement normal des diaphorases qui interviennent dans la phagocytose.

L'étude de la dégradation in vivo de l'activité de la G-6-PD érythrocytaire au cours du vieillissement de l'hématie a été faite chez le mâle hémizygote, par Piomelli (97) en comparant les variantes déficitaires africaines et méditerranéennes. La figure 6 en est une illustration (voir page 29). On y voit bien que dans la variante africaine on ne rencontre pas de déficit total, même dans les hématies adultes. Donc parler comme l'a fait Sankalé (107) de "182 hommes et de 57 femmes à Dakar avec un déficit

total de la G-6-PD" dosée par la méthode qualitative de Motulsky, nous paraît pour le moins significatif d'un manque de rigueur ou de connaissance approfondie sur la question ! Et l'étude faite dans le même hôpital à Dakar par Rey (101) et Camerlynck, parle de 50 déficits, tous du type africain Gd(-) A - où justement un déficit total ne peut pas exister (97) !

E) Aspect génétique :

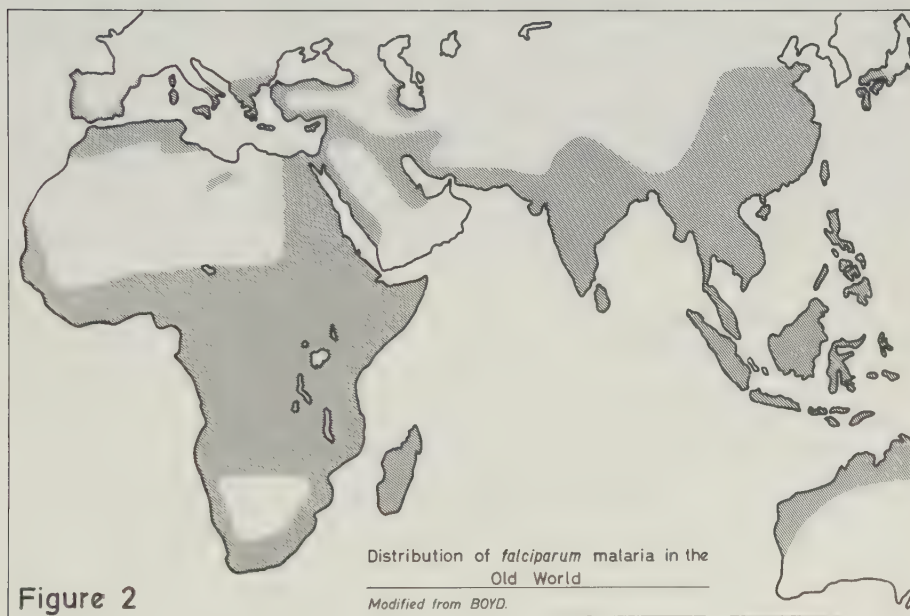
On sait depuis Childs (26) que le déficit en G-6-PD est une tare génétique codée par un gène situé sur le chromosome X. Donc l'homme ne peut la transmettre qu'à ses filles, alors que la mère la transmettra avec la même probabilité aux filles et aux garçons. Les effets délétères de l'affection sont plus apparents chez les garçons hémizygotés obligatoires et chez les filles homozygotes. Cela laisse prévoir un large polymorphisme de la tare dans le sexe féminin. Polymorphisme tributaire de plusieurs facteurs dont :

- a) les lois de probabilité de la génétique mendélienne.
- b) la théorie de Mary Lyon sur l'inactivation d'un des chromosomes X. Selon que le gène mutant est porté par le X inactivé ou le X activé, on aura une expression phénotypique variant de normale à modérée ou au contraire une expression variant de modérée à franche.
- c) l'expression moléculaire de la mutation génique dont nous avons déjà parlé. Selon que cela se traduit par un défaut quantitatif ou qualitatif de la molécule de protéine support de l'enzyme, on aura des phénotypes féminins différents.

Selon Jacques Ruffié (104) le polymorphisme est un argument biologique, une arme défensive nécessaire à la survie de l'espèce dans la niche écologique dont l'hostilité a engendré les mutations géniques. Car le déterminisme ultime de l'apparition des nombreuses variantes de la G-6-PD procède du mécanisme général de l'adaptation. Tout groupe vivant peut être considéré comme un bilan entre un pool génique qui lui assure des "potentialités", et une contrainte écologique dont l'action permanente favorise la diffusion de certains gènes et défavorise certains autres. Ce bilan est justement l'adaptation. Le résultat final de la contrainte écologique est de produire des individus biologiquement forts, de mieux en mieux adaptés à leur environnement. "La force naît de la contrainte" disait Léonard de Vinci ! C'est la pression sélective créée par l'homme qui a engendré les bactéries résistantes aux antibiotiques et les insectes résistants aux insecticides. Il y a des mutants végétaux qui se sont adaptés au milieu hostile des grands déserts. Dans tous ces mutants animaux, végétaux, microbiens, on retrouve ce polymorphisme, d'autant plus important qu'on descend dans l'échelle animale. Le monomorphisme, à terme, conduit à l'inadaptation au milieu hostile. Il est au polymorphisme ce que le mariage consanguin est au métissage biologique cher à Jacques Ruffié et au poète Président Senghor du Sénégal ! C'est l'adaptation qui explique la répartition épidémiologique des variantes de la carence en G-6-PD.

F) Epidémiologie : (fig. 2 et 3)

Ce n'est sûrement pas le fait du hasard si la répartition épidémiologique de la déficience en G-6-PD couvre exactement sur la carte du monde les zones d'hyperendémie paludéenne, ancienne ou actuelle ! Il est bien établi maintenant depuis les travaux d'Allison (4-5-6), de Powell (98), de Luzzato (72) et d'Eaton (45) que le déficit en G-6-PD confère une certaine protection contre la malaria. La corrélation entre l'endémie paludéenne et la prévalence du déficit en G-6-PD est encore bien illustrée par les points 1 et 2 de la figure 3. Il s'agit des Watutsi et des Masai du Kenya et de L'ouganda vivant dans les montagnes. Dans ces pays, la prévalence de la carence en G-6-PD peut atteindre 20 % à la plaine où la malaria sévit de façon permanente. Par contre, dans les montagnes où les moustiques anophèles n'arrivent pas, la malaria n'existe pratiquement pas, et on voit que la prévalence du déficit en G-6-PD y est inférieure à 3 % !



Sur cette figure 2 nous avons porté les valeurs de Genève au point G, et celles du Sénégal au point S. Cette figure montre d'autre part qu'il n'y a pas de corrélation entre la répartition des variantes déficitaires de la G-6-PD et celle de la drépanocytose, bien que toutes les deux tares épousent le mode de distribution de la malaria dans le monde. La seule corrélation que Boivin ait trouvé dans la littérature concerne les drépanocytaires homozygotes chez

lesquels la fréquence des déficits en G-6-PD est très accrue, les deux affections exerçant une action modératrice, l'une sur les effets de l'autre. Par quel mécanisme le déficit en G-6-PD d'érythrocytaire peut-il protéger contre la malaria ?

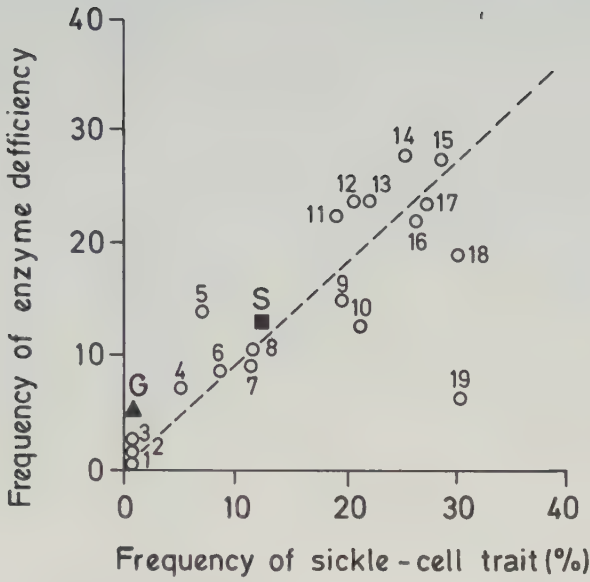
L'avidité du plasmodium pour les groupements "thiol" de la cystéine et les groupements "sulfhydryl" du glutathion, est établie depuis Mac Gree (75) Fulton (50) et Jacob (58). Le parasite est tributaire de ces radicaux soufrés pour sa multiplication et sa croissance intra-érythrocytaire. Il s'en approvisionne en déviant le glutatone de la membrane de l'hématie. La figure 1 montre que l'enzyme glucose-6-phosphate deshydrogénase joue un rôle clé dans la synthèse du glutathion érythrocytaire. Si elle arrive à manquer ou à diminuer sensiblement, l'érythrocyte va s'appauvrir en "aliment" indispensable à la survie du parasite qui va donc l'éviter. S'il ne l'évite pas, le peu de glutathion qui résulte d'une faible activité de la G-6-PD déficitaire sera vite épuisé ; la membrane de l'hématie parasitée s'altère, d'où lyse du globule rouge avec libération de formes immatures, "abortives" de parasites, incapables d'infester un autre globule. A la longue la génération de plasmodiums inoculés par la piqure du moustique va subir le même sort et la parasitémie se limitera d'elle-même, faute d'habitable propice.

Cette protection contre la malaria est forcément relative, vu le grand polymorphisme de la déficience en G-6PD dans le monde. Elle dépendra du type moléculaire de la variante en cause et de l'importance de son expression phénotypique. Ainsi, dans les variantes qui n'affectent pas trop les hématies jeunes, il y aura assez d'activité pour permettre le développement du parasite intraérythrocytaire, et les porteurs du trait pourront parfaitement faire le paludisme.

Mais cette protection n'est pas une simple vue d'esprit. Allison (4) et Eaton (45) ont démontré cela.

Eaton a fait sa démonstration avec la carence en vitamine E. En effet, cette vitamine joue le même rôle protecteur des hématies contre les substances oxydantes capteuses d'électrons (H) ou de radicaux (-SH), appartenant au glutathion réduit (G-S-H) de la membrane érythrocytaire. Dès qu'un oxydant entre dans le sang, la vitamine E se mobilise avant ou en même temps que les ions (H) de glutathion. Dans une expérience très élégante chez la souris (fig. 7) il a montré qu'un régime pauvre en vitamine E pendant 3 à 4 semaines faisait baisser nettement l'index de parasitémie, par rapport à des souris de contrôle, inoculées en même temps avec la même souche de plasmodium. Et la correction de la carence en vitamine E dans le régime faisait remonter cet index chez les souris carencées. Il a montré que le plasmodium était aussi avide de vitamine E que de glutathion, deux éléments primordiaux dans la protection de la membrane érythrocytaire.

Chez l'homme, les observations de Murray (82) en Ogaden ont confirmé les expériences d'Eaton chez la souris. En effet, Murray a constaté que pendant la grande famine qui sévissait en Ethiopie et à la Somalie, il y a 3 ans, les populations que les organisations humanitaires nourrissaient avec des céréales, mourraient comme des mouches, de malaria ; alors que ceux qu'on



Modified from Allison.

Figure 3

Etude de la dégradation in vivo de l'activité de la G-6-PD érythrocytaire chez le mâle hémizygote:

- a) normal
- b) avec déficit de type africain Gd (-) A-
- c) avec déficit de type Gd (-) Méditerranée [ou Gd (-) B-]

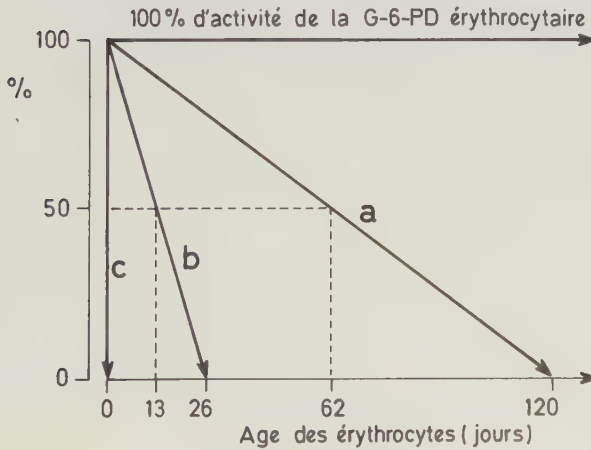


Figure 6

ne pouvait pas nourrir avec ce régime riche en vitamine E, dans la même zone infestée, résistaient beaucoup mieux, tout en ayant "une goutte épaisse" positive. Et dès que ces gens à "goutte épaisse" positive étaient nourris aux céréales, la mortalité paludéenne augmentait !

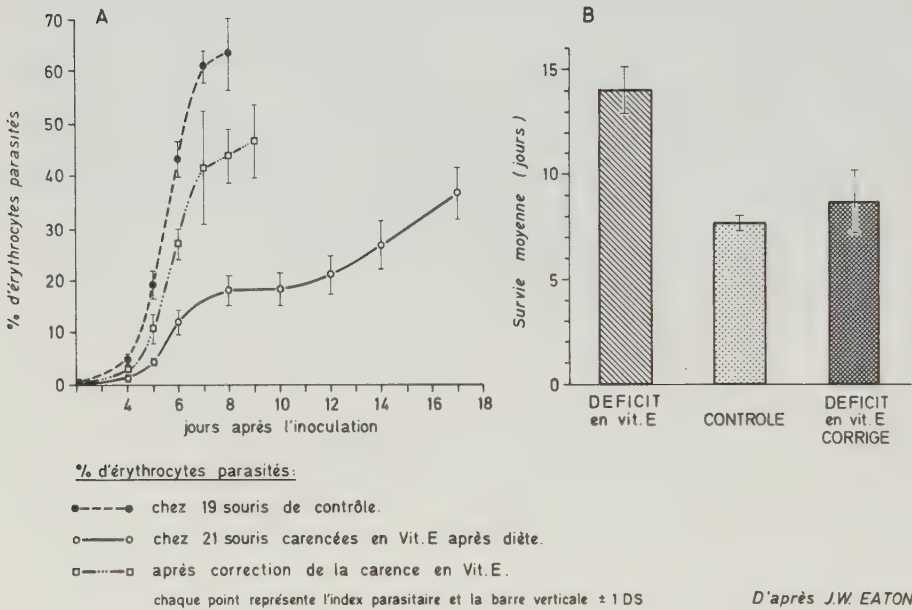


Figure 7

A partir de ces travaux, Eaton suggère de couvrir le traitement aux anti-malariques et autres médicaments oxydants, chez des sujets déficients en G-6-PD, par une administration de vitamine E, pour diminuer le risque d'hémolyse. Mais nous pensons que s'il s'agit d'une malaria, ce que l'on donne d'une main on risque de le retirer de l'autre, à moins que l'effet antihémolytique de la vitamine E soit nettement supérieur à son effet "eupaludéen" !

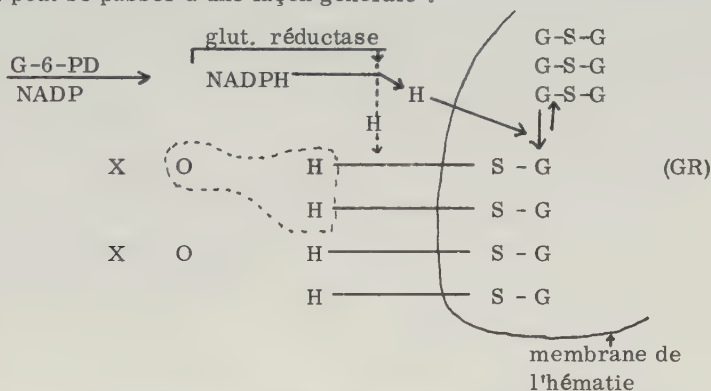
Ces observations nous expliquent a posteriori les paroles que nous répétions souvent en dialecte sénégalais les sages guérisseurs du village de notre enfance : "Mbòle mou bari dai'yòk sibirou". C'est-à-dire : manger trop d'épis de mil grillé aggrave l'accès palustre". On sait qu'au Sénégal la mortalité paludéenne est maximum chaque année à la période des récoltes fraîches de mil en octobre, alors que la période des pluies propice à la pullulation des Anophèles est terminée ! On sait que le mil entier et frais est très riche en vitamine E.

La pharmacogénétique va nous montrer que c'est par un processus similaire que les médicaments oxydants induisent des accidents hémolytiques chez les individus carencés en G-6-PD.

G) Etude pharmacogénétique :

S'il existe un bel exemple pour l'étude de l'influence de l'hérédité sur les réactions aux médicaments, c'est bien celui des variantes déficitaires de la G-6-PD ! (67). L'intérêt de la pharmacogénétique n'échappe ni aux chercheurs biologistes, ni aux cliniciens. Dans l'exemple du déficit en G-6-PD son étude découle de tout ce que nous avons déjà dit sur le rôle du glutathion et les composés à groupements "sulfhydryl" dans la protection de la membrane de l'érythrocyte, sur le rôle capital de l'enzyme G-6-PD comme pourvoyeuse primordiale de glutathion (fig. 1), et sur les types moléculaires des variantes déficitaires et leur polymorphisme.

Si nous considérons une hématie (GR) et une substance oxydante (XO) dans les sang, les réactions de la figure 1 nous aident à imaginer le schéma de ce qui peut se passer d'une façon générale :



On voit bien d'après ce schéma que l'intégrité de la membrane de l'hématie dépend de la permanence d'un taux suffisant de glutathion réduit (G-S-H), lui-même dépendant de celui du NADPH fourni par la G-6-PD qui réduit le substrat glucose-6-phosphate dans l'hématie.

D'autre part, le schéma montre que la substance oxydante (XO) capte l'électron (H) du (G-S-H) de la membrane. Cela revient à faire baisser la tension de (G-S-H) nécessaire à l'intégrité de la membrane de l'hématie. Si par malheur l'hématie est déficiente en G-6-PD, on imagine aisément l'altération de la membrane et la lyse de l'hérythrocyte qui peuvent en résulter. De la même manière on peut aboutir au même résultat avec des hématies non déficitaires, mais surmenées par un excès d'oxydant dont la vigueur d'action dépasse la vitesse de régénération du (G-S-H). Ce qui est vrai pour le glutathion réduit l'est aussi pour toutes les terminaisons libres (-SH) des amino-acides soufrés de la globine, une fois que le rempart de (G-S-H) est franchi par le processus d'oxydation. On aboutit alors à la précipitation de l'hémoglobine, d'où formation de corpuscules de Heinz (49-59). Ainsi, même un individu nor-

mal peut faire une hémolyse médicamenteuse, dans des conditions de surdosage. La particularité du sujet déficient en G-6-PD est qu'il pourra faire son hémolyse avec une dose thérapeutique, selon le degré et le type de son déficit. C'est ainsi que dans des conditions identiques de traitement médicamenteux, les individus à variante déficitaire méditerranéenne peuvent hémolyser, alors que ceux à variante africaine supportent bien le traitement.

Il est tout à fait loisible d'expliquer les hémolyses aux métaux lourds, comme le plomb, par le même schéma. Dès ce moment là on comprend que le Docteur Oltramare, spécialiste en médecine du travail et des accidents, constate que les intoxications accidentelles aux métaux lourds provoquent des manifestations hémolytiques plus fréquentes et plus graves chez les travailleurs déficients en G-6-PD. Cela pose un problème de médecine du travail.

Quels sont les médicaments inducteurs d'accidents hémolytiques ?

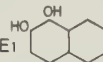
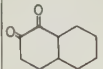
Plutôt que de compiler les listes fastidieuses des spécialités pharmaceutiques signalées dans la littérature (67-92), nous avons préféré nous reporter à l'excellente étude de N. Shahidi (105) qui fait ressortir les 5 groupes têtes de files, avec leurs métabolites responsables de l'oxydation agressive contre la membrane érythrocytaire. Ces grands groupes sont représentés dans le tableau VII. Tous les 5 ont pour commun dénominateur la N-hydroxylation, et la cyclohydroxylation comme modules de passage de leur formule de départ à celle de leurs métabolites oxydants.

Les radicaux "acetyl" et "éthoxyl" exercent un effet modérateur du pouvoir oxydant d'un médicament. Plus longtemps un médicament les gardera à travers son devenir métabolique dans l'organisme, moins agressifs seront ces effets oxydants sur les hématies. Ainsi, la para-éthoxyphenyl-hydroxylamine, métabolite de l'acétophénétidine, ayant gardé son radical "éthoxyl" ($\text{CH}_3\text{-CO}$), est moins hémolysante que la phényl-hydroxylamine, métabolite de l'acétanilide, ayant perdu son radical "acetyl" ($\text{CH}_3\text{-CO}$).

H) Problèmes de santé publique :

Ils devraient découler de tout ce que nous avons dit de la prévalence du déficit en G-6-PD à Genève, de ses conséquences cliniques illustrées dans la rubrique des "cas à hauts risques", de la tendance imparable des gens à l'automédication (surtout dans la tranche de la population la moins intégrée et qui se trouve détenir le record de la tare !) Mais nous reconnaissons que selon les latitudes, les problèmes de Santé Publique revêtent un caractère spécifique. Il est clair qu'on n'aborde pas la question de la même façon à Dakar qu'à Genève. Ici il n'y a pas de malaria, la prévalence y est certes moins forte et intéresse surtout les étrangers, mais le type de déficit est plus grave et expose à des accidents hémolytiques, une population qui a davantage la tentation et les moyens d'abuser des médicaments oxydants ! Donc il ne serait pas absurde de viser, par des conseils génétiques par exemple, à l'extinction de cette tare génétique que le Professeur P. Ferrier classe parmi les "high Frequency, easy or mild menaged hereditary deficiencies". On pourrait aussi sensibiliser le public et ceux qui veillent sur sa santé sur les risques réels qui existent du fait de cette prévalence de la carence en G-6-PD dans la Cité de Calvin ! Par contre, à Dakar où la prévalence atteint 10 à 12 % de la population, le type de déficit expose

"Hemolytic" drugs and their "oxydant" metabolites.

	DRUGS	REDOX METABOLITES	OXYDIZED FORM	
A Acetanilide	A 	A1 		I
A1 Phenylhydroxylamine		A2 		
A2 O-Aminophenol		A3 		
A3 P-Aminophenol				
B Acetophenetidine	B 	B1 		II
B1 P-Ethoxyphenyl - hydroxylamine		B2 		
B2 2-Hydroxyphenetidine				
C Sulfanilamide	C 	C1 		III
C1 P-Hydroxylamino - benzosulfonamide		C2 		
C2 3-Hydroxysulfanil - amide				
D Salicylic acid	D 	D1 		IV
D1 Gentisic acid				
E 6-Methoxyamino- quinolone	E 	E1 		V
E1 5-6-Quinoline quinone				

NB: La N-hydroxylation et la cyclohydroxylation constituent le dénominateur commun de tous ces métabolites "oxydants" inducteurs d'hémolyse chez les déficients en G-6-PD d'après SHAHIDI, Birth Defects: O.A.S. vol VI no.2, 1970

Tableau VII

beaucoup moins à l'hémolyse médicamenteuse, et confère une certaine protection contre le plasmodium falciparum, encore redoutable, alors que les moyens d'éradication de l'endémie paludéenne y restent dérisoires ! Donc ici les mutations tiennent encore avantageusement le rôle d'instrument d'adaptation qui leur a été assigné au départ par la nature ! Tout au plus, serait-on autorisé à orienter les conseils dans le sens de favoriser un polymorphisme pauvre en unités homozygotes féminines et hémizygotés mâles léthales. Quant au problème posé par

les donneurs de sang déficients, on comprend qu'avec un tel polymorphisme à expression du phénotype très variable, on ne puisse pas être dogmatique ! Toutefois, nous pensons que dans une région où domine une variante de déficit important et de sensibilité accrue aux médicaments oxydants, on devrait pouvoir éviter de transfuser du sang déficitaire à des patients soumis à ces médicaments ou à des malades à hauts risques, tels les insuffisants rénaux. Le débat reste ouvert !

V. CONCLUSIONS

Nous pensons que cette étude prospective nous autorise à répondre par l'affirmative à la question qui a motivé au départ son exécution : savoir si la prévalence du déficit en G-6PD dans la population genevoise pouvait revêtir une importance qui justifie d'attirer l'attention des praticiens sur ses implications cliniques éventuelles, et les problèmes de Santé Publique qui pourraient en découler ?

A la lumière de ce travail, nous pensons que tout praticien, hospitalier ou privé, qui aura affaire à un patient d'origine méditerranéenne, devrait, en rédigeant son ordonnance, avoir en mémoire les risques éventuels d'accidents hémolytiques auxquels des sulfamidés ou des salicylés peuvent l'exposer ! Nous parlons évidemment d'étrangers, tout en sachant que sous le label "CH" peuvent s'abriter des noms venus des rives du lac de Tibériade ou des sommets des montagnes du Kurdistan ! En tout cas, ce faisant, si le médecin ne peut pas éviter ces médicaments, il faudrait informer son patient afin de pouvoir parer à toute éventualité dès la moindre alerte. Même si on peut se conforter de disposer à portée de la main d'un grand hôpital universitaire "up-to-date", avec d'excellents spécialistes pour pallier le pire, et qui on ramené à zéro une mortalité iatrogène qui a pu atteindre 10 % (9-67) sous d'autres cieux ! Car, même si l'essentiel est de sauver une vie, les formidables moyens mis en oeuvre pour tirer d'affaire, à raison de plusieurs séances d'hémodialyse, toutes les victimes de sulfamidothérapie pour une infection bénigne, constituent un argument peut-être terre-à-terre, mais avec lequel il faut souvent compter dans notre métier ! Il y aurait encore beaucoup à conclure de cette étude, mais laissons Georges Bernard Shaw nous rappeler, par la bouche de César, que : "Quand, dans ce monde, un homme a quelque chose à dire, la difficulté n'est pas de le lui faire dire, mais de l'empêcher de le dire trop !"

VI. RESUME

L'auteur a établi la prévalence du déficit en glucose-6-phosphate deshydrogénase dans la population résidente de Genève, et a pu étudier sur près de 4 ans, quelques aspects de ses implications cliniques et les éventuels problèmes de Santé Publique que cela pourrait poser.

Les manifestations cliniques qui ont conduit à une hospitalisation ont été dominées par des accidents hémolytiques dont les plus fréquents et les plus graves sont survenus sous sulfamidothérapie, confirmant ainsi d'autres travaux antérieurs (3-46-85-105).

L'auteur a pu éprouver les limites de confiance d'une méthode de référence standardisée, pour le dosage de l'activité de la glucose-6-phosphate deshydrogénase dans les hématies.

Une brève revue a été faite de l'état des connaissances actuelles sur le déterminisme biochimique et génétique, sur l'épidémiologie et la pharmacogénétique du déficit en G-6-PD.

TABLEAU RECAPITULATIF (T.R.)

ECHANTILLONS : (sang de t)	PROVE- NANCE	AUTOCHTONES										ETRANGERS										TOTAL	
		masculin		féminin		total			n° ac. h.		masculin		féminin		total			n° ac. h.					
		n° a.	n° d.	n° a.	n° d.	n° a.	n° d.	d %	a. d.	s. d.	n° a.	n° d.	n° a.	n° d.	n° a.	n° d.	n° a.	n° d.	d %	a. d.	s. d.		
		n° a.	n° d.	n° a.	n° d.	n° a.	n° d.	d %	a. d.	s. d.	n° a.	n° d.	n° a.	n° d.	n° a.	n° d.	n° a.	n° d.	d %	a. d.	s. d.		
1 - Cordons	GENEVE	37	1	39	1	76	2	2,6	-	-	49	1	32	2	81	3	3,7	-	-	157	5	3	
	DAKAR	79	(1) m. -né	81	-	160	1(?)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	160	(1) m. -né	-	
2	Parturiantes	-	-	110	23	110	23	20,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	110	23	21	
	Cordons	51	(1) m. -né	59	-	110	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	110	(1) m. -né	-	
3	Parturiantes	-	-	160	35	160	35	21,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	160	35	22	
	Cordons	79	(1) m. -né	81	-	160	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	160	(1) m. -né	-	
Enfants (de 1 à 4 de 5 à 36 jours)	DAKAR	67	3	68	-	135	3	2,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135	3	2	
	DAKAR	29	4	17	3	46	7	15,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	46	7	15	
Donneurs I	DAKAR	40	5	-	-	40	5	12,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	5	12	
	GENEVE	104	5	154	4	258	9	3,5	-	-	110	16	52	4	162	20	12,3	-	-	420	29	7	
Donneurs II	GENEVE	48	-	20	1	68	1	1,5	-	-	25	-	7	-	32	-	-	-	-	100	1	1	
	GENEVE	199	7	222	4	421	11	2,6	-	-	96	11	111	12	207	23	11,1	-	-	628	34	5	
Populations résidentes	DAKAR	87	16	163	33	250	49	19,6 TE=20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	250	49	20	
	6 - Cas à hauts risques	12	1	5	1	17	(n) ²	11,8	(n) ²	6	30	14	23	11	53	25	47,2	11	7	70	27	39	

n° ac. h. = nombre d'accidents hémolytiques

a.d. = avec déficit en G-6-PD

s.d. = sans déficit en G-6-PD

n° a. = nombre d'analyses effectuées

n° d. = nombre de déficits en G-6-PD trouvés

d % = nombre de déficits pour 100 analyses

m.-né = mort-né

TE = Test d'Emmel

(n) = naturalisé

h = hospitalisé

VII. BIBLIOGRAPHIE

1. Addis S. e Vitali G. : Cataratta e deficit di glucosio-6-fostato deidrogenasi in individui della popolazione sarda. Boll. ocul, 49 ; 374, 1970.
2. Allen D.W. and Jandl J.H. : Oxidative Hemolysis and Precipitation of Hemoglobin : II. Role of Thiols in oxidant drug action, J. Clin. Invest. 40 ; 454, 1961.
3. Allen S.D., Jr and Wilkerson J.L. : The importance of Glucose-6-Phosphate-Deshydrogenase screening in an urologic practice. J. Urol. 107 ; 304, 1972.
4. Allison A.C. and Clyde D.F. : Malaria in African Children with Deficient Erythrocyte Glucose-6-phosphate-deshydrogenase. Brit. Med. J. I ; 1346, 1961.
5. Allison A.C. : Genetic Factors in Resistance to Malaria. Ann. N.Y. Acad. Sci. 91 ; 710, 1961.
6. Allison A.C. : Malaria and Glucose-6-Phosphate-Deshydrogenase, Nature 197 ; 609, 1963.
7. Baumes R.M. : Donneurs de sang. Intérêt du dépistage systématique des déficits en glucose-6-phosphate-deshydrogénase. Maroc, Med. 50 ; 748, 1970.
8. Belton (Mrs.) E.M. and Vaughan R.J. : Haemolytic Anemia due to Nalidixic Acid. The Lancet 2 ; 691, 1965.
9. Bernard Jean et Ruffié Jacques : Emission Médicale T.V.F. 2e chaîne 23/3/1973.
10. Beutler E., Robson M. and Bittenwieser E. : The mechanism of glutathione destruction and protection in drug sensitive erythrocytes in vitro studies. J. Clin. Invest. 36 ; 617, 1957.
11. Beutler E., Yeh M. and Fairbanks, V.F. : The normal human female, as mosaic of chromosome activity : studies using the gene for G-6-PD deficiency as a marker. Proc. Nat. Acad. Sci. 48 ; 9, 1962.
12. Beutler E., Mathai C.K. and Smith J.E. : Biochemical Variants of G-6-PD giving rise to congenital non spherocytic disease. Blood 31 131, 1969.
13. Boivin P. et Kahn A. : Mécanisme des déficits enzymatiques érythrocytaires congénitaux associés à des anémies hémolytiques. Ann. Biol. Clin. 34 ; 53, 1976.

14. Brewer G.J. Tarlov A.R. and Alving, A.S. : Methemoglobin reduction test. W.H.O. Bull. (Bull. O.M.S.) 22 ; 633, 1960.
15. Brewer G.J., Tarlov A.R. and Kellermeyer R.W. : The hemolytic effect of primaquine XII. Shortened life span in primaquinesensitive Negroes, in the absence of drug administration. 'J. Lab. Clin. Med. 58 ; 217, 1961.
16. Brin M. and Yonemoto R.H. : Stimulation of glucose oxidative pathway in human erythrocytes by methylene blue. J. Biol. Chem. 230 ; 307, 1958.
17. Brown W.R. and Boon W.H. : Hyperbilirubinemia and kern icterus in glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficient infants, in Singapore. Pediatrics, 41 ; 1055, 1968.
18. Browne E.A. : The inheritance of an intrinsic abnormality of the red blood cell. predisposing to drug induced hemolytic anemia (absh) Bull. Johns Hopkins Hospital 101 ; 115, 1957.
19. Calbiochem : Doc. No L 03018 August 1, 1975 (19033 Torrey Pines Road California 92037)
20. Carson P.E., Flanagan C.L., Ikes C.E. and Alving, A.S. : Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. Science 124 ; 484, 1956.
21. Carson P.E., Schrier S.L. and Flanagan C.L. : Use of DPNH as co-enzyme for glutathione reductase of hemolysates. Fed. Proc. 16 ; 19, 1957.
22. Carson P.E., Schrier, S.L. and Kellermeyer R.W. : Mechanism of inactivation of glucose-6-phosphate-deshydrogenase in human erythrocytes. Nature, 184 ; 1292, 1959.
23. Carson P.E. : Glucose-6-phosphate-deshydrogenase in hemolytic anemia. Proc. 19 ; 995, 1960.
24. Carson P.E. Brewer G.J. and Ikes C. : Decreased glutathione reductase with susceptibility to hemolysis (Abst.) J. Lab. Clin. Med. 58 ; 804, 1961.
25. Castanier J., Malméjac R. et Pariente P. : La pathogénie des accidents hémolytiques de la thérapeutique par le P.A.S. Arch. Fr. Pediatr. 13 ; 977, 1956.
26. Childs B., Zinkham W., Browne E.A., Kimbo E.L. and Torbert J.V. : A genetic study of a defect in glutathione metabolism of the erythrocyte. Bull Johns Hopkins Hospital 102 ; 21, 1958.
27. Chung A.E. and Langdon R.G. : Human erythrocyte glucose-6-phosphate-deshydrogenase II. Enzyme-co-enzyme interrelationship. J. Biol. Chem. 238 ; 2317, 1963.

28. Coehn G. and Hochstein P. : Glucose-6-phosphate-deshydrogenase and detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. *Science* 134 ; 1756, 1961.
29. Cohen G. and Hochstein P. : Generation of hydrogen peroxide by hemolytic agents. *Biochemistry* 3 ; 4243, 1966.
30. Coehn S.M., Rosenthal D.S. and Karp P.J. : Ulcerative colitis and erythrocyte G-6-PD deficiency. *J.A.M.A.* 205 ; 528, 1968.
31. Cordes Wilhelm : Experiences with "plasmochin" in malaria (preliminary reports) in 15th Annual Report, U.S. Frut Co. (Medical Department), p. 66, 1926.
32. Cordes Wilhelm L : Observations on the toxic effect of "plasmochin" 17th Annual Report, U.S. Frut. Co. (Medical Department), p. 62, 1928.
33. Cottureau D., Kahn A. and Boivin O. : Ji, am Platelet glucose-6-phosphate-deshydrogenase. Total purification, kinetic studies and relationship with enzyme from other blood cell. *Enzyme* 21 ; 142, 1976.
34. De Filippis A. : Presenza di una triplice tara eritrocitaria : Talassemia-emeglobinopatia-L e deficit di glucosio-6-fosfato-deidrogenasi in una bambina del Polesine, Prima osservazione. *Heamatologica* 54 ; 685, 1969.
35. Depperu E. e Riccardi M. : Manifestazioni emolitiche ed esami ematomi-dollari in Bambini sardi durante il trattamento con il P.A.S. *La Pediatria (Napoli)* 3 ; 58, p. 184, 1950.
36. Dern R.J., Weinstein and Alving A.S. : The hemolytic effect of primaquine : I. The localization of the drug induced hemolytic defect in primaquine-sensitive individuals. *J. Lab. Clin. Med.* 43 ; 303, 1954.
37. Dern R.J., Beutler E. and Alving A.S. : The hemolytic effect of primaquine : II. The natural course of the hemolytic anemia and the mechanisms of its self-limited character. *J. Lab. Clin. med.* 44 ; 171, 1954.
38. Dern J.R., Beutler E. and Alving A.S. : The hemolytic effect of primaquine : V. Primaquine sensitivity as a manifestation of a multiple drug sensitivity. *J. Clin. Lab. Med.* 45 ; 30, 1955.
39. Dische Z. and Zil H. : Studies of oxidation of cysteine to cystine in lens proteins during cataract formation. *Amer. J. Ophtalmo.* 34 ; (suppl.) 104, 1951.
40. Dische Z., Borenfreund E. and Zelmenis G. : Change in lens proteins of rats during aging. *Arch. Ophtalmo.* 55 ; 471, 1956.
41. Doxiadis S.A., Fessas P., Valaes T. and Mastrokalos N. : Glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficiency, a new aetiological factor of severe neonatal jaundice. *The Landet* 1 ; 297, 1961.
42. Doxiadis S.A., Karaklis A., Valaes T. and Stavrakakis D. : Risk of severe jaundice in glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficiency of the newborn. Differences in population groups. *The Lancet* 2 ; 1210, 1964.

43. Dreschfeld A. : Picodin, a new antipyretic. *Brit. med. J.* 2 ; 881, 1888.
44. Earle D.P. Jr., Bigelow F.S., Subrod C.G. and Rane C.A. : Studies on the chemotherapy of the human malaria. IX. Effect of pamaquine on the blood cells of man. *J. Clin. Invest.* 27 ; (May suppl. Symposium on malaria) 121, 1948.
45. Eaton J.W., Eckneau J.R., Berger E., and Jacob H.S. : Supression of malaria infection by oxidant-sensitive host erythrocytes. *Nature*, Vol. 264 ; December 23/30, 1976.
46. Emerson C.P., Ham J.H. and Castle W.B. : Hemolytic action of certain organic oxidants derived from sulfanilamide, phenylhydrazine and hydroquinone (Abstr.) *J. Clin. Invest.* 20 ; 451, 1949.
47. Emmel V.E. : A study of the erythrocytes in a case of severe anemia with elongated and sickle-shaped red blood cells. *Arch. Intern. Med.* 20 ; 586, 1917.
48. Ferrier P.E. : Génétique clinique et génétique fondamentale. *Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss* 28 ; 314, sept. 1970.
49. Fertman M.H. and Fertman M.B. : Toxic anemias and Heinz bodies. *Medicine* 34 ; 131, 1955.
50. Fulton J.D. and Grant J.P. : The sulphur requirements of the erythrocytic form of plasmodium Knowlesi. *Biochem. J.* 63 ; 274, 1956.
51. Gilles H.M. and Mc Gregor I.A. : Studies on the significance of high serum gammaglobulin concentration in Gambia Africans : I. Gamma-globulin concentration of Gambian children in the first two years of life. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 53 ; 492, 1959.
52. Gilles H.M. and Taylor B.G. : The existence of glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficiency trait in Nigeria and its clinical implications. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 55 ; 64, 1961.
53. Glaser L. and Brown D.H. : Purification and proprieties of G-6-PD. *J. Biol. Chem.* 216 ; 67, 1955.
54. Guez J. : Les accidents hémolytiques aigus médicamenteux. Deuxièmes journées Nord Africaines de Pédiatrie 202 ; Soc. d'Edit. Franc. en Afr. du Nors, Tunis 1954.
55. Herz F., Kaplan E. and Scheye, E.S. : Diagnosis of glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficiency in the Negro male, despite hemolytic crisis. *Blood* 35 ; (No 1) Janv. 1970.
56. Hochwald R.S., Arnold J., Clayman C.B. and Alving A.S. : Status of primaquine : 4. Toxicity of primaquine in Negroes, *J.A.M.A.* 149 ; 1568, 1952.
57. Ingram V.M : Chemistry of the abnormal human hemoglobins. *Brit. Med. J.* 15 ; No 1, 27, 1959.

58. Jacob H.S., and Jandl J.H. : Effects of Sulfhydryl inhibition on red blood cells : I. Mechanisms of Hemolysis. II. Studies in vivo J. Clin. Invest. 41 ; 779 et 1514, 1962.
59. Jandl J.H., Engle L.K. and Allen D.W. : Oxidative hemolysis and precipitation of hemoglobin : I. Heinz body anemias as an accelerated Form of red cell ageing. J. Clin. Invest. 39 ; 1000, 1960.
60. Janet H., Weil J., Bernfeld (Mme) et Harl J. : Un cas d'anémie hémolytique aiguë chez un nourrisson, après absorption d'acide paramino-salicylique (P.A.S.) en solution buvable. Arch. Fr. Pediatr. 8 ; 78, 1951.
61. Julian G.R., Wolfe G.R., and Reitel F.J. : The enzymes of mammary gland : II. The preparation of glucose-6-phosphate-deshydrogenase. J. Biol. Chem. 236 ; 754, 1961.
62. Kahn A., Boivin P., Hakim J., Lagneau J. : Hétérogénéité des glucose-6-phosphate-deshydrogénases érythrocytaires déficitaires dans la race noire. Etude cinétique et description de deux nouvelles variantes "Gd(-), Dakar" et Gd(-), Mali", Nouv. Rev. Fr. Hémato. 11 ; 741, 1971.
63. Kahn A., Boivin P., Vibert M., Cottureau D., and Dreyfus J.C. : Posttranslational modification of human glucose-6-phosphate-deshydrogenase. Biochimie 56 ; 1395, 1974.
64. Kahn A. and Dreyfus J.C. : Purification of glucose-6-phosphate-deshydrogenase from red blood cells and from human leukocytes. Description of a new method of purification with elective elution of the enzyme by NADP+. Biochi., Biophys. Acta, 334 ; 257, 1974.
65. Kahn A., Meienhofer M.C., Vibert M. et Dreyfus J.C. : Vieillesse moléculaire de la glucose-6-phosphate-deshydrogénase humaine C.r. hebdomadaire. Séanc. Acad. Sci. Paris 270 ; 742, 1974.
66. Kattamis C.A. : Glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficiency in female heterozygotes, and the X-inactivation hypothesis. Acta Paed. Scand. (suppl) 172 ; 98, 1967.
67. Keller D.F. (Referee : Kellermeyer, R.W.) : Erythrocyte glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficiency, a pharmacogenetic prototype. Crit. Rev. in Clin. Lab. Sci (CRC) vol. 1 ; issue 2, May 1970, Published by : the Chemical Rubber Co., 18901 Cranwood Parkway, Cleveland, Ohio 44128, USA.
68. Kirkman H.N., Riley H.D. Jr., and Crowell, B.B. : Different enzymatic expressions of mutants of human glucose-6-phosphate-deshydrogenase. Proc. Nat. Acad. Sci. 46 ; 938, 1960.
69. Kornberg A. and Horecker B.L. : methods in enzymology by Colomick, S.P. and Kaplan, N.O. Acad. Press ; p. 323, 1955, New York.
70. Lambotte C., Direnne J.M., Israël, E. : la déficience en G-6-PD au Congo. Aspects génétiques, chimiques et de santé publique. Ann. Soc. Belg. Med. Trop. 48 ; 473, 1968.

71. Lerman S. and Rochester N.Y. : pathogenic Factors in experimental galactose cataract. *Amer. Med. Ass. Arch. Ophtal.* 63 ; 128, 1960.
72. Luzzato L. Usanga E.A., and Reddy S. (Ibadan Nigeria) Glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficient Red Cells : Resistance to infection by Malarial Parasites. *Science* 164, 839, 1969.
73. Lyon F.M : Sex chromatin and gene activation in mammalian X-chromosome. *Am. J. Hum. Genet.* 14 ; 135, 1962.
74. MacDonald C.D. and Huisman, J.H. : A comparative study of enzymic activities in normal adult and cord blood erythrocytes, as related to the reduction of methemoglobin. *Clin. Chem. Acta* 7 ; 555, 1962.
75. Mc Gree R. and Trager W. : The cultivation of plasmodium lophurae in vitro in chicken erythrocyte suspensions and the effect of some constituents of the culture medium upon its growth and multiplication. *Journal of Parasitology* 36 ; 123, 1950.
76. Mandal B.K. and Stevenson J. : Haemolytic crisis produced by Nalidixic Acid. *The Lancet* 1 ; 614, 1970.
77. Marks P.A. and Gross R.T. : Erythrocyte glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficiency : evidence of differences between Negroes and Causasians with respect of this genetically determined trait. *J. Clin. Invest.* 38 ; 2253, 1959.
78. Marks P.A., Gross R.T. and Banks J. : Evidence of heterogenicity among subjects with glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficiency (Abstr.) *J. Clin. Invest.* 40 ; 1060, 1961.
79. Mills G.C. and Randall H. P. : Hemoglobin catabolism : II. The protection of hemoglobin from oxidative breakdown in the intact erythrocyte. *J. Biol. Chem.* 232 ; 589, 1958.
80. Motulsky A.G. : Crohn's disease and G-6-PD deficiency. *New Engl. J. Med.* 278 ; 281, 1968.
81. Motulsky A.G. and Yoshiba A. : In biochemical methods in red blood cell genetics. *Acad. Press N.Y. and London* 83 ; 1969.
82. Murray M.J., Murray M.B. and Murray C.J. : Somalifood shelters in the Ogaden famine and their impact on health. *The Lancet*, june 12, 1976.
83. Necheles T.F. and Gorshein D. : Virus induced hemolysis in erythrocytes deficient in G-6-PD. *Sciences* 160 ; 535, 1968.
84. Neely C.L., Whidden J.P. and Krauss A.P. : Importance of glucose-6-phosphate-deshydrogenase in blood transfusion (Abstr.). *Programm IX Congress of the International Society of Blood Transfusion, Mexico City* 93, 1962.
85. Norden C.W., Desforjes J.F. and Kass E.H. : Hemolytic effect of sulfonamides in patients with erythrocytes deficient in G-6-PD. *New England J. Med.* 279 ; No 1, 30, July 1968.

86. Norlman E.A., Gubler C.J. and Kuby S.A. : Glucose-6-phosphate-deshydrogenase (Zwischenferment) : I. Isolation of the cristalline enzyme from yeast. *J. Biol. Chem.* 236 ; 1225, 1961.
87. Ohno S. and Hauschka T.S. : Allocycl of the X-chromosome in tumors and in normal tissues. *Cancer Tesearch* 20 ; 541, 1960.
88. Ogino S. and Ichihara J. : Biochemical studies on cataract : V. Biochemical genesis of senile cataract. *Amer. J. Opht.* 43 ; 754, 1957.
89. O.M.S. (un groupe de scientifiques) : Hémoglobinopathies et troubles apparentés. *Ser. Rapp. Techn.* 338 ; 1966.
90. O.M.S. (un groupe de scientifiques) : Normalisation des techniques d'étude de la glucose-6-phosphate-deshydrogénase. *Ser. Rapp. Techn.* 366 ; 1967.
91. O.M.S. (un groupe de scientifiques) : Traitement des hémoglobinopathies et des troubles apparentés. *Serv. Rapp. Techn* 509 ; 1972.
92. O.M.S. (un groupe de scientifiques) : Pharmacogénétique. *Ser. Rapp. Techn.* 524 ; 1973.
93. Oort M., Loos, J.A. and Prins H.K. : Hereditary absence of reduced glutathione in erythrocytes. A new clinical and biochemical entity ? *Vox Sang.* 6 ; 370, 1961.
94. Orsini A., Vovan L., Brusquet Y. et Vassal F. : Etude critique des différentes techniques de dépistage et de détermination des déficits en glucose-6-phosphate-deshydrogénase. *Marseille Médical* 9 ; 665, 1969.
95. Orzalesi N., Sorcinelli R. and Binghi F. : "Cataracts of subjects suffering from Favism". *Opthalmic Research* Vol. 8, 3 ; 192, 1976.
96. Philipps S.M. and Silvers N.P. : Glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficiency infectious hepatitis, acute hemolysis and renal failure. *Ann. Int. Med.* 70 ; 99, 1969.
97. Piomelli S., Corash L.M., Davenport D.D., Magalia J. and Asnorosi E.L. : In vivo lability of G-6-PD, in Gd^{A-} and Gd Méditerranée deficiency. *J. Clin. Invest.* 47 ; 940, 1968.
98. Powell R.D., Brewer G.J., De Gowin R.L. and Carson P.E. : Effects of G-6-PD deficiency upon the host and upon host-drug-malaria-parasite interactions. *Milit. Med.* 131 ; 1039, 1966.
99. Ramot B., Sheba C., Adam A. and Ashkanasi J. : Erythrocyte G-6-PD deficient subjects : enzyme level in saliva. *Nature* 185 ; 931, 1960.
100. Ramot Bracha : Glucose-6-phosphate deshydrogenase variants. Clinical implications. *Ann. Soc. belg. med. Trop.* 49 ; 3, 217, 1969.
101. Rey M., Carmerlynck P., Ondart J.C., Zucher J.M., Plassart M., Alihonou E. et Lafaix C. : Aspects cliniques de la déficience en G-6-PD chez l'enfant africain (à propos de 50 cas dakarois). *Afr. J. Med. Sci.* 2 ; 79, 1971.

102. Roth Marc : Introduction à l'enzymologie clinique (leçon inaugurale de Privat-Doctent : 8 Mars 1969) Médecine et Hygiène 27 p. 721 ; 1969.
103. Ruffie Jacques et Bernard Jean : Hématologie Géographique :
 - a) Tome I : Ecologie humaine et les caractères héréditaires du sang (Masson 1966)
 - b) Tome II : Variations non héréditaires du sang. Hématologie géographique et ethnico-sociale. Données de l'hématologie géographique. Cause de la répartition des caractères sanguins (Masson 1971).
104. Ruffié Jacques : De la Biologie à la culture (Flammarion 1976).
105. Shahidi Nasrollah T. : Drug induced hemolysis : Biochemical considerations. Birth Defects : Original Article Series, VI : No 2, June 1970.
106. Shahidi N.T. and Westring D.W. : Acetyl-salicylic acid induced hemolysis and its mechanism J. Clin. Invest. 49 ; 1334, 1970.
107. Sankalé M., Diop B., Bao O., et col. : Les anémies par déficit en glucose-6-phosphate-deshydrogénase. Bull. Soc. med. Afr. Noire Lang. Fran. 14 ; 561, 1969.
108. Sillon, Prat et Tahr : Accidents hémolytiques par absorption de P.A.S. ascorbique Maroc Médical 341 ; 1004, 1953.
109. Siniscalco M., Bernini L., Latte B. and Motulsky A.G. : Favism and thalassemia in Sardinia and their relationship to malaria. Nature 190 ; 1179, 1961.
110. Siniscalco M. : Human G-6-PD deficiency as a tool for basic genetic research. Ann. Soc. Belge. Med. Trop. 49 ; 3, 277, 1969.
111. Smillie W.G. : Betanaphthol poisoning in the treatment of hookworm. J. Amer. Med. Ass. 74 ; 1503, 1920.
112. Smith J.E., Ryer K. and Wallace L. : "glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficiency in a dog". Eujyme 21 ; 379, 1976.
113. Sonnet J. and Michaux J.L. : Glucose-6-phosphate-deshydrogenase deficiency, haptoglobin groups, blood groups, and sickle cell trait in Bantus of West Belgian Congo. Nature 188 ; 504, 1960.
114. Stérn B.K. and Vennesland B. : The enzymatic transfer of hydrogen : IX. The reactions catalyzed by glucose-6-phosphate-deshydrogenase and 6-phosphogluconic deshydrogenase. J. Biol. Chem. 235 ; 205, 1960.
115. Strauss R.R., Paul B.B., and Sbarrar A.J. : Effect of phenylbutazone on phagocytosis and intra cellular killing by Guinea Pig polymorphonuclear leukocytes. J. Bact. 96 ; 1982, 1968.
116. Szeinberg A., Kellermann J., Adam A., Sheba C. and Ramot B. : Hemolytic jaundice following Aspirin administration to a patient with a deficiency of G-6-PD in erythrocytes. Acta Haemato. 23 ; 58, 1960.

117. Tchernia G., Zucker J.L., Boal M.R. et Kuakuvi N. : Fréquence et incidence du déficit en G-6-PD érythrocytaire chez le nouveau-né africain à Dakar. Etude préliminaire. *Nouv. Rev. Fr. Hematol* 11 ; 145, 1971.
118. Valaes T., Karaklis A., Stavrakakis D. and col. : Incidence and mechanism of neonatal jaundice related to G-6-PD deficiency. *Pediatr. Research* 3 ; 448, 1969.
119. Vovan L. : Les enzymopathies intra-érythrocytaires. Documenta Geigy sur "Enzymologie pratique" Bâle 1974.
120. Warburg O. and Christian W. : Ueber Aktivierung der Robinsonschen Hexose Mono-phosphorsäure in roten Blutzellen, und die Gewinnung Aktivierender Fermentlösungen. *Biochem. Z.* 242 ; 206, 1931.
121. Wipf R., Stinge R., Fall A., et Girard J.P. : Hémolyse massive aiguë, consécutive à l'administration intraveineuse d'Acide Para-Amino Salicylique (P.A.S.). Coexistence de trois éléments pathogéniques, *Rev. Fr. Mal. Resp.* 4 ; 149, 1976.
122. Yoshida Akira : A single amino-acid substitution (Asparagine to aspartic acid between normal (B+) and the common negro variant (A+) of human glucose-6-phosphate-dehydrogenase. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 57 ; 835., 1967.
123. Yoshida A., Stamatoyanopoulos G. and Motulsky A.G. : A negro variant of G-6-PD deficiency (A-) in man. *Science* 155 ; 97, 1967.
124. Yoshida Akira : Purification of human glucose-6-phosphate-dehydrogenase by affinity chromatography. *J. Chromato* 114 ; 321, 1975.
125. Zinkham W.H. : Enzyme studies on lenses of persons with primaquine-sensitive erythrocytes (Abstr.) *Amer. J. Dis. Child* 100 ; 525, 1960.

